

PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

NOBURÔ KAMIYA
OSAKA

SIEGFRIED STRUGGER
MÜNSTER

HERAUSGEGEBEN VON

JOSEF SPEK
ROSTOCK

FRIEDL WEBER
GRAZ

KARL HÖFLER
WIEN

BAND XLIX, HEFT 2
MIT 72 TEXTABBILDUNGEN UND 4 TAFELN
ABGESCHLOSSEN AM 8. JANUAR 1958



WIEN
SPRINGER-VERLAG
1958

Protoplasma

Die Zeitschrift

Protoplasma

erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften wechselnden Umfangs, die zu Bänden von 600 bis 650 Seiten vereinigt werden.

Die Zeitschrift veröffentlicht Originalarbeiten, kurze Mitteilungen, Sammelreferate und kritische Referate aus allen Teilen der Protoplasmaforschung. Die Abhandlungen, kurzen Mitteilungen, Sammelreferate und Referate können in den Sprachen der internationalen biologischen Kongresse verfaßt sein.

Manuskripte sowie alle auf die Redaktion bezüglichen Anfragen sind an

Prof. Dr. Fr. Weber, Pflanzenphysiologisches Institut, Graz, Schubertstraße 81, Österreich, oder

Prof. Dr. J. Spek, Zoologisches Institut, (3a) Rostock, Universitätsplatz, DDR, oder

Prof. Dr. K. Höfler, Pflanzenphysiologisches Institut, Wien I, Dr.-Karl-Lueger-Ring 1, Österreich

zu senden; alle geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 6

Fernsprecher: 63 76 71 Serie — Telegrammadresse: Springerbuch Wien.

Die Manuskripte sollen mit der Maschine geschrieben sein. Den Abhandlungen ist eine Zusammenfassung beizufügen, die Literatur ist nicht in Form von Fußnoten, sondern am Ende der Arbeit in Listenform anzuführen.

Die Manuskripte sind vollständig druckreif und in fehlerfreier Sprache einzusenden, so daß bei der Korrektur nur Satzfehler verbessert zu werden brauchen. Überschreiten die Autorkorrekturen 10%, der Satzkosten, hat der Autor das Mehr zu tragen.

Die Vorlagen für die Abbildungen müssen vollkommen nachbildungsfähig abgeliefert werden. Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige Maß zu beschränken. Farbige Abbildungen können nur auf Kosten des Autors angefertigt werden. Für die Reproduktion besonders reichen Illustrationsmaterials ist im Interesse der Benutzer der Zeitschrift ein Kostenbeitrag zu leisten.

Bedingung der Aufnahme von Arbeiten ist: möglichst kurze Fassung des Textes. Die Beiträge sollen im allgemeinen den Umfang von 1½ Druckbogen (24 Seiten) nicht überschreiten.

„Vorläufige Mitteilungen“ und Auseinandersetzungen polemischen Inhalts werden nicht angenommen. Grundsätzlich werden nur Arbeiten aufgenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen. Die Autoren erhalten 100 Separata ihrer Arbeit kostenlos und können maximal weitere 100 Separata zum angemessenen Preis beziehen. Die Bestellung muß mit dem dem Fahnenabzug beigelegten Bestellzettel bei der Rücksendung der korrigierten Fahnen erfolgen.

Unkostenersatz wird nur für Sammelreferate geleistet.

Der Verlag

XLIX. Band

Inhaltsverzeichnis

2. Heft

Abhandlungen

Seite

Spek, J.: Robert Chambers gestorben	185
Diskus, A.: Das Osmoseverhalten einiger Peridineen des Süßwassers	187
Franz, Renate: Lipidentmischung von Algenplastiden	197
Miličić, D., und V. Bralić: Viruskörper von <i>Rumex obtusifolius</i>	226
Wohlfarth-Bottermann, K. E.: Cytologische Studien II (Die Feinstruktur des Cytoplasmas von <i>Paramecium</i>)	231
Höfler, K.: Aluminiumsalz-Wirkung auf Spirogyren und Zygnemen	248
Reiter, Liselotte, und F. Weber: Sind die „Cytoplasmakugeln“ von <i>Delphinium</i> X-Körper?	259
Pernauer, Sieglinde: Das Verhalten einiger Cyanophyceen bei osmotischen Impulsen	262
Roth, Ingrid, und J. O. Nedel: Polarisierung und Phasenkontrast-Verfahren als Hilfsmittel bei der photographischen Wiedergabe mikroskopischer Präparate von Pflanzengewebe	296
Höfler, K., und W. Url: Das Verhalten der Chondriosomen bei Kappenplasmolyse	307
Philipsborn, H. v., und Renate Frein v. Hodenberg: Die Deutung der pseudotetraedrischen Kristalle von Calciumoxalat-Monohydrat in Pflanzenzellen	320

Kurze Mitteilung

Neubauer, H. F.: Rotverfärbte Chloroplasten in einer Cucurbitaceen-Frucht	325
---	-----

Referate

326

Robert Chambers gestorben

Am 22. Juli ist nach langem Krankenlager Professor Dr. Robert Chambers gestorben. Robert Chambers konnte in seinem Alter auf ein langes, bunt bewegtes Leben zurückblicken, welches ihn durch viele fremde Länder geführt hatte. Ich glaube, daß die Eindrücke, die er bei diesen Reisen gewann, irgendwie in einem Winkel seines Herzens mithalfen, seine originelle, liebenswürdige Persönlichkeit aufzubauen. Er hatte nicht das Talent, Eigentümlichkeiten der Vertreter anderer Nationalitäten sich zu eigen zu machen. So blieb er, seit ich ihn kannte, das, was er war. Er hatte sich z. B. auch in Deutschland so lange aufgehalten, daß er den Doktorgrad der philosophischen Fakultät (Abt. Biologie) der Universität München erwerben konnte, aber ich glaube nicht, daß es ihm gelungen wäre, auch nur für kurze Zeit als Deutscher zu erscheinen. Was die Gesinnung betrifft, war Chambers damals, als ich ihn 1932 kennenlernte, ein guter Amerikaner im besten Sinne des Wortes gewesen und ist es auch zeitlebens geblieben.

Die nächstfolgenden Lebensdaten verdanke ich Herrn Dr. Friedrich Gudernatsch, New York. Die beiden Forscher waren mehr als dreißig Jahre an gleichen Instituten tätig, zuerst am Cornell University Medical College, später an der New York University. Wir hoffen, in einem ausführlichen Nachruf später noch die wissenschaftlichen Verdienste von Chambers würdigen zu können.

Chambers ist am 23. Oktober 1881 in Erzerum in der Türkei geboren. Sein Vater war dort englischer Missionar. Der Nationalität nach war er Kanadier. Später (1924) erwarb er die Staatsbürgerschaft der Vereinigten Staaten.

Seine erste Schulbildung erhielt er in Kleinasien und die höhere Ausbildung im Robert College in Istanbul, wo er 1900 den „Bachelor of Arts“ erwarb. 1902 wurde er auf der Queen's University in London, Ontario, „Master of Arts“. 1908 erwarb er den Grad eines Doktors der Philosophie (Biologie) an der Universität München. 1944 wurde ihm von der Queen's University der Ehrendoktor der Jurisprudenz verliehen. 1903—1906 war er Lehrer, 1908/09 stellvertretender Direktor an einer türkischen Mittelschule. 1909—1911 war er Lektor in Biologie an der Universität Toronto (Kanada), 1911/12 Instruktor an der Columbia-Universität, New York, 1912—1915 außerordentlicher Professor der Histologie und vergleichenden Anatomie an der Medizinschule der Universität Cincinnati, 1915—1919 Instruktor in mikroskopischer Anatomie der Medizinschule der Cornell-Universität, New York City, 1919—1922 außerordentlicher Professor, 1922—1928 Professor daselbst, 1928—1947 Professor für biologische For-

schung an der Graduate School, New York University, New York City, wo er 1947 emeritiert wurde. 1954 wurde er Leiter des Laboratoriums für experimentelle Zellforschung an dem Marine Biological Laboratory in Woods Hole. 1931 wurde er Gastlektor am Physiologischen Institut der Universität Moskau, 1935 „Ferris“-Gastlektor an der Yale University, New Haven, Connecticut.

1926 wurde Chambers Mitherausgeber der Zeitschrift „Protoplasma“. Er veröffentlichte zahlreiche Arbeiten, darunter auch Beiträge in der Encyclopedia Britannica. Weiterhin wurde er Ehrenmitglied des „Caius College“, Cambridge University, England. Vom Marine Biological Laboratory, Woods Hole, wurde er auch in das Direktorium gewählt. 1940–1944 war er Verantwortlicher Forscher im Office of Scientific Research and Development, Washington.

1925 erhielt er den John-Scott-Preis, Philadelphia, Pa., 1925 den Linnean-Society-Preis, London.

Als Mitglied wurde er in folgende wissenschaftliche Gesellschaften aufgenommen: American Association for the Advancement of Science; American Society of Naturalists; American Society of Zoologists (Präsident 1949); Society for General Physiology; American Association of Anatomists (Vizepräsident 1939); American Physiological Society; American Botanical Society; Harvey Society of New York (Präsident 1944–1946); American Cancer Research Society; New York Academy of Medicine; New York Academy of Science; Union of American Biological Societies (Präsident); British Biological Corporation.

Seine Forschungsinteressen erstreckten sich auf die physikalische Chemie des Protoplasmas, experimentelle Zellforschung, Gewebezüchtung, Krebs-Cytologie, Nierenphysiologie und Physiologie der Blutkapillaren.

Aus seiner ersten Ehe stammten vier Söhne: der erste diente im zweiten Weltkrieg als Marineoffizier und ließ dabei sein Leben; der zweite wurde Kliniker, der dritte Physiologe und der vierte Journalist.

Professor Dr. Josef Speck
Zoologisches Institut der
Universität Rostock
(Im Namen der Redaktion)

Das Osmoseverhalten einiger Peridineen des Süßwassers

Von

Alfred Diskus

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Mai 1957)

Einleitung

Die weltweite Verbreitung der Peridineen im Süß- und vor allem im Salzwasser bringt es mit sich, daß auch die osmotische Resistenz der verschiedenen Formen in weiten Grenzen schwankt. Anlässlich einer Exkursion des Wiener Pflanzenphysiologischen Instituts in das Lagunengebiet von Venedig lernte ich zwei wohl extrem osmotisch resistente Dinoflagellaten kennen: *Amphidinium Höfleri* Schiller und *Oxyrrhis marina* Duj. Im Wiener Institut wurden mit diesen Formen Versuche über die osmotisch bedingten Lebensgrenzen angestellt. Es ist erstaunlich, daß diese Organismen in 0,1- bis 3,5fachem Seewasser leben können (Schiller und Diskus 1955, Höfler, Url, Diskus 1957). Hohe Traubenzucker-, Kaliumnitrat-, Harnstoff- und Azetamidkonzentrationen wurden ebenfalls schadlos ertragen, obwohl bei Behandlung mit diesen Stoffen erhebliche, durch osmotische Volumsschwankungen ausgelöste Gestaltsänderungen an den Zellen vor sich gehen (Diskus 1956).

Anknüpfend an die Ergebnisse dieser Untersuchungen möchte ich über analoge Versuche an einigen Süßwasserperidineen berichten.

Da die Entwicklungsoptima der einzelnen Peridineengattungen im Süßwasser zu sehr verschiedenen Zeitpunkten des Jahres auftreten und andererseits für derartige Versuche nur sehr reichliches Material verwendet werden kann, habe ich mich auf wenige Formen, welche aber in hoher Individuendichte auftreten, beschränkt. Es sind dies *Gymnodinium Pascheri* (Suchlandt) Schiller, *G. paradoxum* Schilling, *Peridinium bipes* Stein, *P. cinctum* (Müll.) Ehb. und *P. volzi* Lemm.¹

¹ An Bestimmungsliteratur hatte ich die Darstellungen von Lemmermann (1920), Schoenichen (1925), Lindemann (1928) und Schiller (1933) zur Verfügung.

Peridineen in Kultur zu halten, um sie so jederzeit zur Verfügung zu haben, ist bislang mit Süßwasserformen noch nicht gelungen. Küster (1908) und Jollos (1910) berichten über eine erfolgreiche Kultur eines marinen Dinoflagellaten (*Gymnodinium fucorum*) in künstlichem Meerwasser, dem etwas *Fucus*-Extrakt beigegeben war. Bei Süßwasserperidineen fehlen zuverlässige Angaben über Kultivierbarkeit. Ich habe stets mit frischem, vom Standort eingebrachten Material gearbeitet.

Methodik

Die untersuchten Peridineen, insbesondere die Gymnodinien, sind sehr temperaturempfindlich. Bei dem am 15. Februar 1955 in einem Löschteich unter einer dicken Eisschicht gesammelten *Gymnodinium Pascheri* genügte

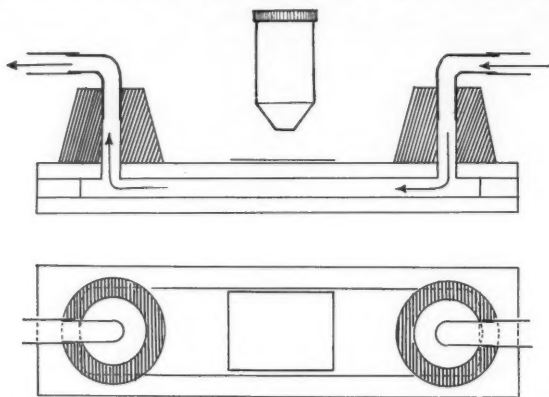


Abb. 1. Wassergekühlter Objektträger zur Untersuchung von wärmeempfindlichen Peridineen. (Erklärung im Text.)

ein Aufenthalt von 10 Minuten in einem Raum von 18° C, um die lokomotorische Bewegung der Zellen zu stoppen. Nun ist aber der Lebenszustand der Zellen während der Versuchsarbeit an der Beweglichkeit der Zellen am zuverlässigsten ersichtlich. Demnach ist eine annähernd gleichmäßige Temperatur des Standortwassers und aller zur Verwendung kommenden Lösungen anzustreben. Ich habe das dadurch erreicht, daß die Proben sowie die verwendeten Lösungen in einem von Leitungswasser durchflossenen Becken oder auch in mit Schnee gefüllten Gefäßen auf konstanter niedriger Temperatur gehalten wurden.

Eine kleine Schwierigkeit bereitet die mikroskopische Beobachtung. Um einer unliebsamen Erwärmung vorzubeugen, habe ich bei meinen Untersuchungen einen von durchströmendem Wasser gekühlten Objektträger verwendet (siehe Abb. 1). Auf einen Plexiglasrahmen wurden beiderseits zwei Glasplatten mittels Kanadabalsams aufgeklittet. Auf die beiden Löcher der oberen Glasplatte sind zwei durchbohrte Gummistopfen aufgeklebt (am besten mit „Uhu-Alleskleber“). Mittels eines Glasröhrchens wurden nun Gummischläuche für den Zu- und Abfluß des Leitungswassers angeschlos-

sen. Das durchströmende Wasser hatte zur Zeit der Untersuchung eine Temperatur zwischen 6 und 8°C. Die Lufttemperatur des Arbeitsraumes lag zwischen 15 und 18°C. Auf dem solcherart gekühlten Objektträger hielten die Peridineen auch unter Deckglasabschluß mehrere Stunden lang ihre schaukelnde Bewegung aufrecht. Auf einem normalen Objektträger untersuchte Peridineen stellten bei gleicher Zimmertemperatur schon nach etwa 10 Minuten die Bewegung ein.

Durch die Kühlung des Objektträgers beschlägt sich bisweilen das Deckglas mit feinen Wassertröpfchen. Man kann das Material dann besser auf einem eingeschlifften Objektträger mit einem Objektiv 10× untersuchen. Für viele Zwecke genügt diese Vergrößerung. Der Arbeitsabstand von ca. 8 mm macht dann ein Deckglas entbehrlich.

Versuche in Seewasser- und Traubenzuckerreihen

a) *Gymnodinium Pascheri* (Suchlandt) Schiller

Die ersten Versuche wurden an *Gymnodinium Pascheri* ausgeführt. Diese Peridinee ist eine typisch stenotherme Kaltwasserart, das Optimum der Entwicklung liegt nach den Beobachtungen von Schiller (1955, S. 15) bei einer Wassertemperatur unter 4°C. Ich fand diesen Organismus am 15. Februar 1955 in Massen unter einer 5 cm dicken Eisschicht im Wasser eines Betonbeckens im Springerpark, Wien XII. In geringerer Individuenzahl waren noch *Synura uvella* und *Uroglana europaea* vorhanden.

Die verwendeten Gymnodinien hatten eine deutlich abgegrenzte Hülle, wie überhaupt alle bisher als nackt bezeichneten Gymnodinien eine, wenn auch im Leben schwer sichtbare Körperhülle besitzen sollen (Schöenichen 1925, S. 146).

Ich habe vorerst die durch osmotische Reize bedingten Grenzen der lokomotorischen Bewegung untersucht. Die Zellen wurden in Verdünnungsreihen von normalem Seewasser² mit Standortwasser, welches gleichzeitig die Gymnodinien enthielt, beobachtet. Das Seewasser wurde dabei jeweils auf 0,9, 0,8 bis 0,1 seiner ursprünglichen Konzentration verdünnt. Die Proberöhrchen wurden dann ins Freie gestellt. Die Außentemperatur betrug um 9,50 Uhr — 4°C. Nach einer Stunde wurde untersucht.

In 1,0 bis 0,6 Sw. sind alle Zellen tot. Die zarte Hülle ist zum Teil geplatzt, der Plasmahalt vakuolig zerteilt.

0,5 Sw.: Keine Bewegung. Zelle osmotisch geschrumpft und von der Körperhülle abgehoben. Diese ist z. T. unversehrt oder auch in der Mediane aufgerissen.

0,4 Sw.: Zellen ruhig, Protoplast geschrumpft, Hülle abgehoben, bei vielen Zellen tritt das Furchensystem sehr deutlich zutage.

0,3 Sw.: Alle Zellen ruhig, Körperhülle in Falten gelegt und vom Zellinhalt losgelöst. Furchen sehr deutlich.

0,2 Sw.: Ähnlich 0,3.

0,15 Sw.: Fast alles ruhig. Einige Zellen führen zuckende Bewegungen am Platze aus, eine Zelle bewegt sich schaukelnd vorwärts. Furchen undeutlich, Zellgestalt normal.

² Der Chloridgehalt des Seewassers betrug nach frdl. Bestimmung durch Herrn Dr. Helmuth Kinzel 3,58%.

0,1 Sw.: Alle Zellen ruckartig beweglich, lokomotorische Bewegung noch deutlich gehemmt, wenige Zellen schaukeln durchs Präparat.

0,05 Sw.: Viele Zellen in schaukelnder Bewegung, wenige ganz ruhig.

Unbehandelte Kontrolle: Alle Zellen frei beweglich, wenige ganz ruhig (tot).

Gymnodinium Pascheri ist demnach ein osmotisch äußerst empfindlicher Organismus. Die Grenze der Beweglichkeit liegt sehr tief, zwischen 0,1 und 0,05 Seewasser, das entspricht einem Chloridgehalt von lediglich 0,17 bis 0,35%.

Der analoge Versuch wurde auch mit Traubenzuckerlösungen angestellt. Das Bewegungsvermögen erlischt bei 0,2 Mol. In 0,1 Mol beobachtet man noch langsames Gleiten auf der Unterlage, unterbrochen von zuckenden Bewegungen. In 0,5 Mol tritt eine deutliche osmotische Verkleinerung auf, die Furchen sind dabei sehr deutlich sichtbar. In 0,4 Mol ist bisweilen der Protoplast von der Hülle abgehoben, das Furchensystem abermals deutlich hervortretend. Der starke Wasserentzug in Lösungen über 0,5 Mol wirkt alsbald tödlich.

b) *Gymnodinium paradoxum* Schilling (Abb. 2 a)

Diesen Organismus hatte ich aus Moorproben zur Verfügung. Eine Probe sammelte Prof. Höfler in einem Hochmoor (RT) in der Ramsau bei Schladming, eine andere Probe stammte aus einem Moor in der Um-

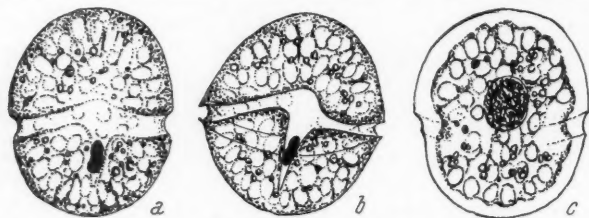


Abb. 2. a *Gymnodinium paradoxum*; unbehandelte Zelle. b in 0,4faches Seewasser übertragen, Furchensystem sehr deutlich hervortretend. c in normalem Seewasser getötete Zelle; Plasma abgehoben und koaguliert, Furchen kaum sichtbar.

gebung von Tamsweg. Die optimale Entwicklung erreicht diese Peridinee erfahrungsgemäß im Spätwinter, den Sommer über ist sie noch reichlich zu finden, tritt aber im Herbst dann sehr stark zurück. Die Proben standen nun eineinhalb Jahre lang unter gleichbleibenden Licht- und Temperaturverhältnissen in einem Fließwasserbecken des Pflanzenphysiologischen Instituts. Die Temperatur des Leitungswassers, welches die Sammelgläser kühlte, betrug im Winter 6° C, im Sommer selten mehr als 10° C. Die Individuenzahl dieser Proben (gesammelt im August 1955) nahm im Oktober rapid ab, einige Wochen später waren nur mehr ganz wenige schwärmende Zellen zu finden. Gelegentlich einer Durchsicht der Materialien im Mai 1956 war eine erstaunlich reiche Entwicklung von *Gymnodinium paradoxum* in den vormals verarmten Proben eingetreten. Dieser Organismus hat offenbar den am natürlichen Standort erworbenen Entwicklungsrhythmus in der Kultur auch unter veränderten Bedingungen beibehalten.

Im Reihenversuch mit gestuften Seewasserkonzentrationen war an dieser Peridinee derselbe Effekt wie an *Gymnodinium Pascheri* zu beobachten: um 0,1 Sw. liegt die Grenze der Beweglichkeit. Nachfolgend ein kurzes Protokoll eines Traubenzuckerversuches:

Gymnodinium paradoxum aus dem Ramsauer Torfmoor (RT):

0,1 Mol: Drehende Bewegung am Platze, Furchen undeutlich erkennbar; normale Zellgestalt.

0,2 Mol: Zellen haben sich zu Boden gesetzt, alles ruhig. Furchen sind sehr deutlich erkennbar. Bei einigen Zellen Zelleib von der Hülle leicht abgehoben.

0,3 Mol: Furchensystem ist sehr deutlich sichtbar geworden. Viele Zellen haben allerdings auch keine deutlichen Furchen und auch keine abgehobenen Protoplaste (Abb. 2 a, b).

0,4 Mol: Alles ruhig. Furchen zum Teil sehr deutlich, bei anderen wieder abgehobene Protoplaste mit jedoch unregelmäßigen, welligen Konturen (wohl tot) (Abb. 2 c).

0,5–1,0 Mol: Alle Zellen tot. Plasmakörper z. T. ausgetreten, Zellhaut gesprengt.

Gymnodinium paradoxum ist also, obwohl keineswegs so stenotherm wie *G. Pascheri*, ebenfalls osmotisch sehr empfindlich. Die Bewegungsgrenzen sowie die morphologischen Veränderungen in stärker hypertonschen Medien sind bei beiden Formen annähernd gleich. Es sei besonders festgehalten, daß die Furchen, welche bei diesen Formen normalerweise nicht deutlich in Erscheinung treten, infolge des osmotischen Wasserentzuges sehr deutlich sichtbar werden.

c) *Peridinium bipes*, *P. volzi*,
P. cinctum

Als Gegenstück zu den sehr zart behüteten *Gymnodinien* waren noch Vertreter stark gepanzerter Süßwasserperidineen auf ihr Osmoseverhalten zu untersuchen. Im März 1957 bot sich Gelegenheit, mit einem reichen Material von *Peridinium cinctum* und *Peridinium volzi* zu arbeiten. In geringerer Individuenanzahl hatte ich noch *Peridinium bipes*, welches im sogenannten „Kaiserwasser“ aus den Wiener Praterauen gesammelt wurde, zur Verfügung. Die drei verwendeten Peridineenspezies erwiesen sich als weit weniger temperaturempfindlich als die vorher untersuchten *Gymnodinien*.

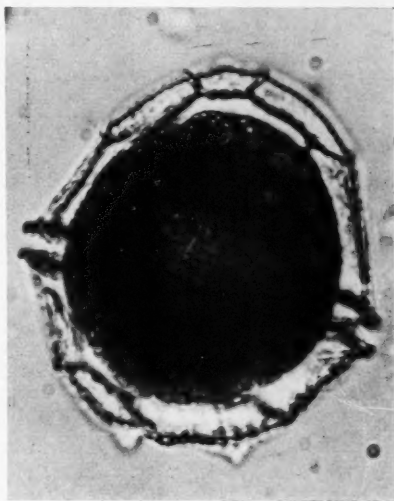


Abb. 3. *Peridinium bipes*. Plasmolyse in 1,0 Mol Traubenzucker.

Vorerst ein Seewasserversuch. Die Verdünnungsreihen wurden in kurzen Epruvetten hergestellt und diese mit dem ganzen Epruvettenständer ca. 5 cm tief in fließendes Leitungswasser (Temp. 10° C) eingetaucht. Nach 2 Stunden wurden die Proben nun untersucht.

Unbehandelte Kontrolle: Alle Zellen schwimmen.

0,05 Sw.: Alle Zellen schwimmen normal.

0,1 Sw.: Zellen ruhig, keine morphologischen Veränderungen zu sehen.

0,2 Sw.: Alles ruhig, Protoplast gerundet und vom Zellulosepanzer leicht abgehoben.

0,3 Sw.: Ähnlich 0,2. Protoplast von der Zellwand sehr deutlich abgehoben.

0,4—1,0 Sw.: Zellen alle ruhig. Protoplasten abgehoben, schön gerundet, ab 0,7 Mol offenbar tot.

Im Traubenzuckerversuch schwärmen noch in 0,1 Mol viele Zellen, in 0,2 Mol ist jede Bewegung erlahmt. In 0,3 Mol beobachtet man erstmalig eine leichte Abhebung des Zelleibes vom Panzer. In 1,0 Mol sind wohl die meisten Zellen tot, andere zeigen aber schön gerundete Protoplasten (Abb. 3).

Reversibilität

Solange die Zellen lokomotorische Bewegung zeigen, ist ihre Vitalität offensichtlich. Schwieriger ist es, an osmotisch erstarrten oder geschrumpften Zellen zu entscheiden, inwieweit bei solchen Zellen der Lebenszustand verändert wurde.

Die erste Reaktion der Zellen auf einen osmotischen Reiz ist ein Aufhören der lokomotorischen Bewegung. Die Geißeln sind ja ganz allgemein die empfindlichsten Organellen der Flagellaten. Auch die osmotisch sehr resistenten Euglenen werfen bei Behandlung mit wasserentziehenden Lösungen die Geißeln in der Regel ab und können sich dann nur mehr metabolisch kriechend bewegen (K. u. L. Höfler 1952, Diskus 1954).

Peridineenzellen, welche die schwärmende Bewegung infolge Abwerfens der Geißel einstellen, sind zweifellos nicht geschädigt. Die Geißel ist ja ein Organell, das ohne Schwierigkeiten ersetzt werden kann.

Wie steht es nun um Zellen, bei denen durch stärkeren Wasserentzug sichtbare morphologische Veränderungen an den Protoplasten auftreten? Solche Veränderungen drücken sich, wie erwähnt, in einem sehr deutlichen Sichtbarwerden der Furchensysteme bei *Gymnodinium Pascheri* und *G. paradoxum* aus. Bei noch stärkerem Wasserentzug löst sich der Protoplastmaleib von der Hülle, dabei werden die Furchen wieder unklarer. Sind solche Zellen noch lebend? Wenn ja, so müssen die osmotisch bedingten Veränderungen reversibel sein. Einen ersten derartigen Versuch stellte ich mit *Gymnodinium Pascheri* an.

Die in Seewasser und Zuckerlösungen zur Ruhe gekommenen erstarrten und geschrumpften Zellen sinken zu Boden und sammeln sich am Grunde des Versuchsrohrchens an. Ich habe diesem Vorgang noch durch kurzfristiges Zentrifugieren nachgeholfen (1/2 Minute bei 2000 Touren). Mit einer Pipette wurde das überstehende Seewasser bzw. die Zuckerlösung zum Großteil abgesaugt und nun allmählich die Probe mit filtriertem (d. h. peridineenfreiem) Standortswasser im Laufe einer Stunde auf etwa

das Zehnfache des vorher vorhandenen Volumens aufgefüllt. Nach einem Tag wurde untersucht:

Die in 1,0 bis 0,3 normalem Seewasser vorbehandelten Proben werden durch das Auffüllen getötet. Viele Zellen sind geplatzt, die vordem gut sichtbaren Furchen sind nicht mehr zu erkennen.

Die in 0,2 Seewasser gelegenen Zellen sind nach dem Auffüllen alle ruhig. Die Furchen sind undeutlich konturiert, die Hülle nicht abgehoben. Die Zellen sind wohl ebenfalls tot.

Zellen, welche vorher in 0,1 Seewasser erstarrt waren, bewegen sich nach dem Auffüllen ruckartig oder drehen sich am Platze.

In den Röhrchen mit den analogen Traubenzuckerkonzentrationen verhielten sich nach dem Auffüllen mit Standortwasser die *Gymnodinien* ähnlich wie im Seewasserversuch. In 0,2 Mol erstarrte Zellen werden wieder beweglich; in den nächst höheren Konzentrationen vorbehandelte Zellen bleiben nachher in Standortwasser unbeweglich oder werden überhaupt getötet.

Die gepanzerten Peridineen vertragen noch eine Vorbehandlung mit 0,3 Mol Traubenzucker; in den aufgefüllten Proben schwimmen einige Zellen bereits wieder. Eine leichte osmotische Verkleinerung ist demnach reversibel. Sie ist vital erfolgt und darf als Plasmolyse bezeichnet werden. Schon in 0,4 Mol sind die Zellen jedoch unbeweglich, zum Teil entspannt, zum Teil noch mit unregelmäßig abgehobenem Protoplasten anzutreffen. Beides sind wohl Nekrotestadien.

Versuche mit Harnstoff und Azetamid

Im Anschluß an die Seewasser- und Traubenzuckerversuche habe ich noch Harnstoff und Azetamid auf ihre Wirkung untersucht. Nach den an *Oxyrrhis marina* gemachten Erfahrungen wirken diese Stoffe infolge ihres Permeationsvermögens je nach der Geschwindigkeit ihres Eindringens in diese nackten Peridineenzellen vorerst schrumpfend und später volumsvergrößernd (Diskus 1956, S. 167, 168).

Ich habe solche Versuche nun an *Gymnodinium paradoxum* ausgeführt. Ich darf die Ergebnisse der Harnstoffversuche gleich vorwegnehmen: Harnstofflösung wirkte ähnlich wie äquimolare Lösung von Traubenzucker oder Seewasser. Bereits in 0,1 Mol hört die lokomotorische Bewegung auf. Mehrmals wurde beobachtet, wie die Längsgeißel abgeworfen wird, sich dann noch einige Zeit (bis zu 30 Sekunden) selbständig zuckend bewegt. Das Furchensystem bleibt wie an unbehandelten Zellen nur angedeutet sichtbar. In höheren Konzentrationen, etwa 0,4 Mol, stehen die Zellen sofort still, doch treten infolge osmotischen Wasserentzuges die Furchen sehr deutlich in Erscheinung.

Nach längerem Verweilen in den Harnstofflösungen (etwa nach 2 Stunden) werden die Furchen undeutlich, wobei zunächst unentschieden bleibt, ob es sich um letale oder prämortale Veränderungen infolge Verlustes der Semipermeabilität des Protoplasten beim Absterben handelt. Ein abermaliges Übertragen solcher entspannter Zellen in höhere Harnstoffkonzentrationen

trationen könnte diese Frage klären. Bei solchen Organismen scheitert aber ein derartiges Vorhaben schon an der Schwierigkeit der technischen Durchführung solcher Manipulationen.

Bei der Untersuchung zeigte sich, daß sich das Verhalten der gepanzerten Peridineen in Harnstoff nicht wesentlich von dem in Traubenzucker oder Seewasser unterscheidet. Eine sichtliche Rückdehnung des Protoplasten in der Harnstofflösung, welche auf eine Permeation hinwies, konnte ich nicht beobachten.

Die Permeation von Azetamid in Gewebszellen wurde in jüngerer Zeit mehrfach untersucht (Collander 1949, Hofmeister 1938, Url 1952). Ich gebe im folgenden einen Reihenversuch wieder, der die relativ höchste bisher beobachtete Resistenz bei Süßwasserperidineen erkennen läßt. Es wurde wieder mit *Gymnodinium paradoxum* gearbeitet.

Aus 5 cm³ 1,0 molarer Azetamidlösung und 5 cm³ Peridineenwasser wurde eine 0,5 molare Lösung hergestellt (12.45 Uhr).

12.55 Uhr: Alles ruhig, doch beginnt eine ruhende Zelle sich zu bewegen, eine zweite schwimmt lebhaft.

13.00 Uhr: Viele Zellen bewegen sich langsam, die Furchen sind undeutlich sichtbar.

13.07 Uhr: Viele Peridineen drehen sich am Platze, andere schaukeln durch das Präparat.

13.17 Uhr: Ähnliches Bild wie vor 10 Minuten.

13.57 Uhr: Die Anzahl der frei beweglichen Zellen ist eher größer geworden.

15.10 Uhr: Noch immer etwa die Hälfte aller Zellen in schaukelnder Bewegung.

Der gleiche Versuch wurde ein Jahr später an Peridineenmaterial, welches frisch aus den Wiener Praterauen eingebracht wurde, ausgeführt. Die Proben enthielten *Peridinium volzi*, *P. cinctum*. In der Reihe von 0,1—1,0 Mol Azetamid schwimmen einzelne Zellen in 0,7 Mol noch nach 4 Stunden. Nach 2 Tagen finden sich in der 0,5 molaren Azetamidlösung noch schwärmende Zellen.

Azetamid hat also wesentlich andere Wirkung als Seewasser, Traubenzucker oder auch Harnstoff. An den zart behäuteten Gymnodinien bleiben die Furchen weiterhin zart konturiert, die gepanzerten Peridineen plasmolysieren nicht. Die schwärmende Bewegung bleibt in beiden Fällen in hohen Konzentrationen lange Zeit aufrecht.

Besprechung

Beim Vergleich der Wirkungen von Seewasser, Traubenzucker, Harnstoff und Azetamid ist festzuhalten, daß hypertonische Lösungen der drei erstgenannten Substanzen bedeutend stärker schädigen als Azetamidlösungen gleicher oder gar höherer Molarität. Eine spezifisch stoffliche Wirkung der verwendeten Substanzen ist von vornherein nicht wahrscheinlich. Seewasser ist ein ideal equilibriertes Salzgemisch, dessen Unschädlichkeit für viele plasmatische Objekte bekannt ist. Traubenzucker und Harnstoff haben sich nach reichen Erfahrungen der Zellphysiologen an sehr vielen Zellobjekten ebenfalls als unschädlich erwiesen. Azetamid ist anderwärts

nicht eben harmlos. Gerade dieser Stoff erweist sich aber bei den untersuchten Peridineen als am wenigsten schädigend.

Seewasser und Traubenzucker permeieren nicht oder nur ganz langsam. Sie wirken daher in erster Linie wasserentziehend und machen, schon in geringen Konzentrationen angewandt, die Zellen bewegungslos. Etwas stärkerer Wasserentzug tötet die Zellen alsbald ab. In solchen Versuchen zeigt sich also die geringe osmotische Resistenz der Peridineen. Die morphologisch sichtbaren Veränderungen am Protoplasten, welche die osmotische Schrumpfung begleiten, sind dabei je nach dem Bau der einzelnen Formen verschieden.

An den zart behäuteten Gymnodinien erscheinen als auffälligstes Phänomen die normalerweise undeutlich sichtbaren Furchen sehr deutlich auf (Abb. 2 b). An den Furchen ist die Körperhülle offenbar am dünnsten, diese Stellen funktionieren gleichsam als Scharniere, an denen die Zellhälften zusammengeschoben werden. Die Kraft, welche nötig ist, die Zelle an den Furchen einzudellen, ist jedenfalls geringer als jene, welche imstande wäre, das Plasma von der Hülle abzulösen. Daß hier die zartesten Stellen der Zelloberfläche liegen, zeigen die bei zahlreichen Gymnodinien beobachteten Pseudopodien, welche häufig in der Furche nahe den Geißelansatzstellen entspringen. Möglicherweise sind hier überhaupt die Zellen nackt. (Fritsch 1949, S. 667, Schiller 1955, S. 14.)

Die Möglichkeit, Volumsverkleinerungen durch Zusammenschieben der Zellhälften an den Furchen sich vollziehen zu lassen, ist jedoch begrenzt. Stärkere Schrumpfung in höheren Konzentrationen von Seewasser, Traubenzucker und auch Harnstoff führt zu einer Lostrennung des Plasmas von der Hülle. Solch starker Wasserentzug des Protoplasten ist irreversibel schädigend. Die Loslösung des Plasmakörpers von der Hülle kann an und für sich auch schadlos erfolgen. Eine so innige Verbindung von Plasma und Körperhülle, wie wir sie etwa bei den Eugleninen finden, wo eine Trennung des Plasmas vom Periplasten im Leben nicht möglich ist (vgl. Klebs 1895, K. u. L. Höfler 1952, Diskus 1953), ist bei den Peridineen nicht gegeben. Der Protoplast kann ohne weiteres im normalen Leben die Hülle sprengen und ausschlüpfen. Es ist ja bekannt, daß viele Peridineen sich im nackten Zustand nach Zerreißen und Abwerfen der Hülle teilen. Dergleichen können Zellen unter ungünstigen Lebensbedingungen aus ihrer Hülle ausschlüpfen, ohne sich zu teilen (Schoenichen 1925, Schiller 1933). Man muß also annehmen, daß bei den Peridineen, zumindest in vielen Fällen, der Tod im Hypertonikum nicht durch Ablösung der Hülle vom Protoplasten, sondern durch den Wasserentzug erfolgt.

Bei den dick gepanzerten Peridineen sind die Furchen im Panzer starr vorgegeben, eine Volumsverkleinerung muß sich daher in einer Loslösung des Plasmas vom Panzer äußern. Ich konnte hier auch eine typische Plasmolyse beobachten, nach längerer Einwirkung erscheint der Protoplast auch schön gerundet.

Die Reversibilität der osmotischen Verkleinerung des Protoplasten war durch Aussüßungsversuche, wobei tropfenweise die Lösung langsam und stetig verdünnt wurde, zu erweisen: In Traubenzuckerlösungen von 0,2 Mol vorbehandelte Gymnodinien wurden nach dem Aussüßen wieder beweg-

lich. Die *Peridinium*-Arten vertragen eben noch eine vorherige Behandlung mit 0,3 Mol Traubenzucker, um im ausgesüßten Medium wieder lokomotorische Bewegungen auszuführen.

Ein derartiger Wechsel der osmotischen Umweltsbildungen ist bei den Süßwasserperidineen am normalen Standort nicht gegeben und also völlig ungewohnt. Die Todesrate in den ausgesüßten Proben war dementsprechend hoch.

Einzelne Salzwasserperidineen sind solchen Aussüßungen (also hypotonischen Schocks) gegenüber nicht so hilflos. *Amphidinium Höfleri* und *Oxyrrhis marina* können, wie einleitend erwähnt, in stärkst hypotonischer (0,1 Seewasser) und hypertotonischer (3,5) Umgebung existieren. Sie können starken Wasserverlust leicht ertragen. Nach Busch (1927, S. 459/60) ist die häufig beobachtete Bereitschaft vieler Salzwasser-Gymnodinien zur Gallertbildung eine Schutzmaßnahme gegen plötzliche osmotische Umweltsänderungen, wie sie beispielsweise bei tropischen Gewitterregen gegeben sind.

Literatur

- Busch, W., 1927: Zur Kenntnis der Gymnodinien. Arch. Protistenk. 58, 456.
- Collander, R., 1949: The permeability of plant protoplasts to small molecules. Physiologia Plantarum 2, 500.
- Diskus, A., 1953: Zum Osmoseverhalten halophiler Euglenen vom Neusiedlersee. Sber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I, 150, 171.
- 1954: Vitalfärbestudien an *Euglenaceen*. Protoplasma 44, 194.
- 1956: Osmoseverhalten und Permeabilität der Gymnodiniale *Oxyrrhis marina*. Protoplasma 46 (Weber-Festschrift), 160.
- Fritsch, F. E., 1948: The Structure and Reproduction of the Algae. Vol. I. Cambridge.
- Höfler, K. u. L., 1952: Osmoseverhalten und Nekroseformen von *Euglena*. Protoplasma 41, 76.
- W. Uhl und A. Diskus, 1956: Zellphysiologische Beobachtungen und Versuche an Algen der Lagune von Venedig. Boll. della Soc. Venez. e del Museo Civico, Vol. IX, 63.
- Jollos, K., 1910: Dinoflagellatenstudien. Arch. Protistenk. 19, 178.
- Klebs, G., 1895: Flagellatenstudien I und II. Z. wiss. Zool. 55, 265 und 353.
- Küster, E., 1908: Eine kultivierbare Peridinee. Arch. Protistenk. 11, 351.
- Lemmermann, E., 1902: *Peridinales*. Ber. dtsh. bot. Ges. 20, 243.
- 1910: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Algen I (Schizophyceen, Flagellaten, Peridineen). Leipzig.
- Lindemann, E., 1928: *Peridineae (Dinoflagellatae)*. Natürl. Pflanzenfamilien 2, 1.
- Schiller J., 1953: *Dinoflagellatae (Peridineae)*. Rabenhorsts Kryptogamenflora 10, 1. Teil, Leipzig.
- 1955: Untersuchungen an den planktischen Protophyten des Neusiedlersees 1950–1954, I. Teil. Wissenschaftl. Arb. aus d. Burgenland, herausg. vom burgenländ. Landesmuseum u. d. Inst. f. wiss. u. wirtschaftl. Erforschung d. Neusiedlersees.
- und A. Diskus, 1955: Über ein neues *Amphidinium* von einer Laguneninsel bei Venedig. Sber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I, 100.
- Schoenichen, W., 1925: Einfachere Lebensformen des Tier- und Pflanzenreiches 1. Berlin-Lichterfelde.
- Uhl, W., 1952: Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden. Protoplasma 41, 287.

Lipidentmischung von Algenplastiden

Von

Renate Franz

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut
der Universität Wien

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 16. Mai 1957)

Einleitung

Die Entstehung von Myelinfiguren aus Chloroplasten wurde erstmalig von Weber (1933) an *Spirogyra*-Zellen bei Behandlung mit Na- oder K-Oleat beobachtet. Über Versuche in dieser Richtung an höheren Pflanzen berichteten Menke (1934) und Frey-Wyssling (1937). Einen Beweis der Lipidnatur der die Myelinfiguren bildenden Chloroplastenstoffe erbrachte Menke (1934) durch seine Versuche der Lösung dieser Stoffe in Lipidlösungsmitteln und ihrer Verseifung. — In vorliegender Arbeit sollte untersucht werden, ob Algenplastiden im allgemeinen zur Bildung von Myelinfiguren befähigt sind und wie weit eventuell art- und gattungsspezifische Unterschiede auftreten. Ferner wurde das Verhalten der entstandenen Myelinfiguren und Sphärolithe gegenüber basischen Vitalfarbstoffen geprüft.

Myelinfiguren wurden erstmalig von Nestler an Ätherextrakten markhaltiger Nerven beobachtet und wurden nach Virchow als Formen einer besonderen Substanz „Myelin“ (= Nervenmark) als Myelinformen bezeichnet. Senft (1907) fand, daß Myelinformen von Lezithinen, Cholesterinen und Fettsäuren gebildet werden können. Fauré-Fremiet (1929) beschrieb die Bildung von Myelinformen aus dem Lezithin der Amöbocyten von *Asterias*. Gicklhorn (1932) erhielt im Safttraum der Epidermiszellen von *Allium cepa* Myelinfiguren, indem er Epidermishäutchen in NH_3 oder NaOH legte. Im Modellversuch nach Neubauer können dieselben durch Zusatz eines Tropfens Ölsäure zu konzentriertem NH_4OH , auf Objektträger und unter Deckglas, gebildet werden, wobei an der Grenzfläche schlauchartige Gebilde verschiedener Größe entstehen, die sich allmählich vorwärtsschieben, sich verlängern und zu Schlingen und mäanderförmig krümmen. Dieselben Erscheinungen treten auch bei Zusatz von Wasser zu Na-Oleat oder Lezithin auf und erweisen sich zwischen gekreuzten Nikols als doppelbrechend.

Diese Myelinfiguren und Sphärolithe entstehen sowohl bei Quellung von Lipiden als auch bei Verseifungsprozessen. Die Quellung kann bei stark hydrophilen Lipiden, wie z. B. Lecithin, bereits durch Zusatz von Wasser erreicht werden. Die Verseifung fester Öle in Pflanzenzellen erfolgt nach Molisch (1891, 1913) durch Behandlung derselben mit einem Gemisch wässriger konzentrierter KOH und wässrigen konzentrierten Ammoniaks, wodurch die Öltropfen trüb werden, myelin- oder traubenförmige Massen auftreten und schließlich die Bildung der Seifen der Fettsäuren in Form von Nadeln oder Sphärokristallen eintritt.

Die Entstehung von Myelinfiguren aus den Chloroplasten ist auf deren Gehalt an Lipiden zurückzuführen. Über die chemische Zusammensetzung pflanzlicher Chloroplasten berichten Frey-Wyssling (1949) und Menke (1955). Weitere Literaturangaben über frühere Arbeiten werden von Frey-Wyssling (1955) angeführt. Wie nun die Versuche von Menke und Menke (1955) ergaben, enthalten normale, wasserhaltige Chloroplasten höherer Pflanzen zum Großteil Wasser, zu nahezu gleichen Teilen Proteine und Lipide — wobei in letzteren das Chlorophyll gelöst ist — und einen geringen Anteil an Mineralsalzen, Kohlehydraten etc. Die Lipide und Proteine sind in Lamellen angeordnet, wobei je eine Proteinlamelle zwei Lipiddoppellamellen entspricht. Frey-Wyssling (1955) nimmt an, daß die Lipide in Bindung an Eiweißstoffe als Lipoproteide auftreten. Da die Lipide der Chloroplasten durch Fettlösungsmittel oder verseifende Agenzien zur Auswanderung veranlaßt werden können (Weber 1933, Menke 1953, Frey-Wyssling 1957), müßte nur eine lockere Bindung zwischen Proteinen und Lipiden bestehen.

Die molekulare Struktur der Lipide ermöglicht den Aufbau wasserundurchlässiger Lamellen, wodurch die Abgrenzung der Zellorganelle gegenüber dem wasserhaltigen Grundcytoplasma ermöglicht wird (vgl. Haas 1955). Somit bilden die Lipide einen äußerst wichtigen Bestandteil beim Aufbau lebender Substanz.

Die Grana der Chlorophyllkörner, nunmehr eindeutig nachgewiesene Strukturelemente der Chloroplasten höherer Pflanzen (Strugger 1950, 1951, 1953, 1954; Strugger und Perner 1956; Kaja 1956; Heitz und Maly 1953; Frey-Wyssling 1955) besitzen nach Weier (1958) und Dangeard (1944) Lipoproteidcharakter, nach Strugger (1951, 1954) enthalten sie reichlich Lipide. Nach Frey-Wyssling (1955) ist der absolute Gehalt an Lipiden und Proteinen in den Grana bedeutend größer als im Stroma.

I. Versuche zur Lipidentmischung

Bei Behandlung der Zellen mit 2%igem Na-Oleat konnten mit geringen Ausnahmen die Chloroplasten sämtlicher untersuchter Pflanzen entmischt werden, wobei sich Myelinformen verschiedenster Gestalt und kugelige oder ellipsoidische Sphärolithe bildeten. Es sei nun die morphologische Beschreibung derselben wiedergegeben und die sich ergebenden gestaltlichen und zeitlichen Differenzen aufgezeigt.

Daß die Entmischungsformen aus den Chloroplasten und nicht etwa aus Protoplasma oder Zellsaft entstehen, ist durch fortlaufende Beobachtung des Entmischungsvorganges festzustellen. Auch war bei Austritt des Zellinhaltes — z. B. verschiedener Algenzellen — in das die Zellen umgebende Na-Oleat ein deutlicher Unterschied erkennbar zwischen kleinen, farblosen Myelinformen, welche sich vermutlich aus dem austretenden Plasma entwickelten, und größeren, intensiv grünen Entmischungsformen, die aus den Chloroplasten hervorgegangen waren.

Bei sämtlichen untersuchten Algen trat durch Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat eine Entmischung der Chloroplasten zu Myelinfiguren und Sphärolithen ein, welche mehr oder weniger intensiv, meist diffus grün gefärbt waren — also das Chlorophyll aufgenommen hatten — und zwischen gekreuzten Nikols Doppelbrechung zeigten. Letztere ließen bereits im Orthoskop das schwarze Auslöschungskreuz erkennen, was für Sphärökristalle kennzeichnend ist.

1. Zygnemataceen

Die Gattung *Spirogyra* zeigte bei Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat die von Weber (1933) beschriebenen Erscheinungen, Entstehung von Myelinfiguren und Sphärolithen.

Dieselben Versuche an *Zygnema* ergaben zeitliche Differenzen in bezug auf Eintritt und Erreichung des Endstadiums der Entmischung sowie morphologische Unterschiede.

Nach Verquellung der Plastidensubstanz trat hier erst 2 Stunden nach Versuchsbeginn die Bildung der ersten Myelinfiguren ein. Das Endstadium der Chloroplastenentmischung wurde jedoch bereits nach

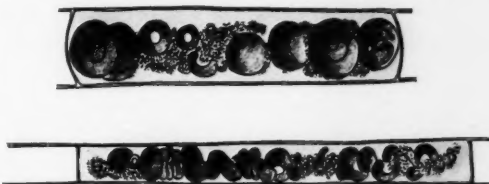


Abb. 1. *Mougeotia*. Endstadium der Lipidentmischung der Chloroplasten.

weiteren 10 Minuten erreicht und war gekennzeichnet durch zahlreiche kugelige Sphärolithe, welche zwischen gekreuzten Nikols Doppelbrechung und das schwarze Auslöschungskreuz zeigten und sich entlang der Zellängswände befanden, während das Zellinnere von körnigen Zellresten, wie Stärke, Plastiden- und Plasmaresten, erfüllt war.

Versuche der Lipidentmischung von *Mougeotia*-Chloroplasten mittels 2%igem Na-Oleينات verliefen häufig negativ. Wenn Entmischung eintrat, schien sich der gesamte Chromatophor in intensiv grüne Myelinschleifen und — häufig auch geschichtete — kugelige Sphärolithe umzuwandeln. An körnigen Plastidenresten blieb sehr wenig zurück (Abb. 1).

2. Mesotaeniaceen

Im Vergleich zu den übrigen untersuchten Pflanzenarten und -gattungen ergaben sich bei *Netrium digitus* beträchtliche Unterschiede. Als erste Reaktion der Zelle auf Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat erfolgte auch hier Plastidenkontraktion, wodurch der sogenannte Aufhängeapparat der Chloroplasten (Kopetzky 1954) sehr deutlich sichtbar wurde. Infolge der äußerst intensiven Anhaftung des Plasmas an der Zellwand war hier auch eine Kontraktion der gesamten Zelle festzustellen. Im Unterschied zu den untersuchten Zygnemataceen begannen sich bei *Netrium digitus* die ersten kleinen Schlingen und Schleifen bereits 10–25 Minuten nach Zusatz des 2%igen Na-Oleينات zu bilden. Das Endstadium der Lipidentmischung trat ebenfalls früher ein (30–60 Minuten nach Versuchsbeginn), verzögerte

sich aber in manchen Fällen auch bis zu mehreren Stunden. Es kennzeichnete sich durch die Ausbildung verschieden geformter, zusammenhängend und bandförmig in drei bis fünf Längsreihen angeordneter Gebilde, welche diffus gelblichgrün gefärbt erschienen. Zwischen gekreuzten Nikols leuchteten dieselben grell grün auf und ließen ihre Zusammensetzung aus Sphärokristallen erkennen. Zur genaueren Beschreibung möge folgendes Versuchsprotokoll dienen.

Netrium digitus (Riesachmoor bei Schladming): 11. VI. 55.

13.49 Uhr: Durchsaugen von 2%igem Na-Oleinat.

13.51 Uhr: Es ist Vakuolenkontraktion festzustellen, das Protoplasma erstarrt wabig, die Plastiden kontrahieren sich, wobei der dadurch sehr deutlich sichtbare plasmatische Aufhängeapparat der Plastiden ebenfalls erstarrt, körnig wird und infolge Nachlassen der Oberflächenspannung und Koagulation seine Gestalt verliert.

13.58 Uhr: Plötzliches Reißen der Vakuolenwände, womit gleichzeitig ein Auseinanderfließen der Chloroplasten verbunden ist, so daß dieselben nun wieder den gesamten Innenraum der Zelle erfüllen. Die Plastidenränder bleiben fasrig ausgezogen, der Zellwand anhaftend.

14.00 Uhr: Eintritt der Myelinfigurenbildung. Aus dem Zentralkörper der Chloroplasten in der Mitte der Zelle und an den Zellenden Auswachsen kleiner Schlingen und Schleifen, die sich zusehends vergrößern. Innerhalb der zarten und schmalen Schleifen bleibt weiterhin eine körnige Struktur sichtbar. Stellenweise ist an den Chromatophoren ein Auseinanderweichen von Lamellen zu beobachten, wodurch ein unregelmäßig-welliges Aussehen des Chloroplasten zustande kommt.

14.15 Uhr: Es kamen weitere Myelinformen hinzu, vor allem sphärolithartige Bildungen. Aus den Plastidenlappen bildeten sich zahlreiche kleinere Schlingen.

14.25 Uhr: Keine Veränderung zu beobachten.

14.55 Uhr: Weiterhin keine Veränderung feststellbar.

15.15 Uhr: Einige sphärolithähnliche Gebilde vergrößert, andere hinzugekommen.

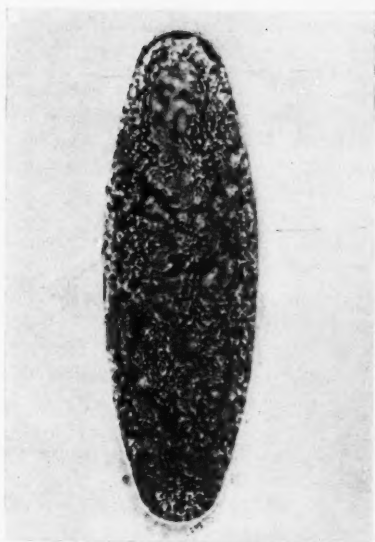
16.15 Uhr: Die gesamte Zelle erscheint etwas geschrumpft, wodurch das Auftreten von Querfalten in der sehr zarten Membran zu erklären ist. Im Unterschied zu den übrigen untersuchten Arten der *Desmidiaceae* ist bei *Netrium digitus* die ganze Zelle erfüllt von Plasma- und Plastidenresten, wobei auch letztere bis eng an die Zellwand heranreichen. In der Mitte der Zelle befindet sich ein ziemlich einheitlicher „Myelin-Schlauch“, gegen die Zellwand hin mehrere kleinere längliche, flächige Entmischungsfiguren, in drei Längsreihen — parallel zur Zelllängsachse — angeordnet. Die Myelinentmischungsformen sind diffus gelblichgrün gefärbt, zwischen ihnen die Stärkeschollen in zwei Längssträngen gelagert. An den Zellenden befindet sich je ein ziemlich einheitliches, der Zellwand anliegendes Myelinband (Abb. 2 und 3).

Abb. 2. *Netrium digitus*. Bandförmig angeordnete Entmischungsformen in maximaler Ausbildung.

Abb. 3. *Netrium digitus*. Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat. „Myelin-Schlauch“, der Zellwand anliegend.

Abb. 4. *Closterium lunula*. Endstadium der durch 2%iges Na-Oleinat hervorgerufenen Myelin-Entmischung.

Abb. 5. *Closterium lunula*. Zellmitte: ellipsoidische Sphärolithe.



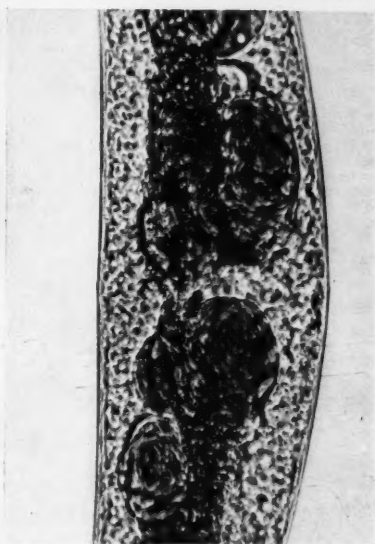
2



3



4



5

Mittels Rhodamin B vitalgefärbte Chromatophoren zeigten ebenfalls bei Zusatz von Na-Oleinat die oben beschriebenen Erscheinungen. Die Myelinentmischung hatte jedoch früher ihr Endstadium erreicht und blieb unvollkommen. Zellen, welche mit 0,2 molarem K-Rhodanid vorbehandelt waren und deren Chromatophoren sehr deutlich ihre körnig-lamellare Struktur erkennen ließen, verhielten sich bei Zusatz von Na-Oleinat wie normale lebende, auch in bezug auf die Ausbildung des Endstadiums der Chloroplastenentmischung. Es trat lediglich eine Beschleunigung der Anfangsstadien derselben ein.

3. Desmidiaceen .

Verschiedene Arten der Gattung *Closterium* ließen bei Lipidentmischung ihrer Chloroplasten dieselben Stadien erkennen, wobei im Endstadium die für Closterien typischen ellipsoidischen, großen Sphärolithe auftraten. Die lebenden Chromatophoren sämtlicher untersuchter Arten zeigen eine deutliche „Grana“-Struktur. Beobachtungen über den Feinbau verschiedener Algenchromatophoren sollen in einer noch folgenden Arbeit näher beschrieben werden.

Sehr schön war die Lipidentmischung der Plastiden bei *Closterium lunula* zu beobachten. Hier bildeten sich körnig-lamellare Schlingen und Schleifen, auch ringförmige Bildungen, eine bis mehrere Stunden nach Zusatz des Reagens — also wesentlich später als bei *Netrium*. Auch das Endstadium der Entmischung wurde viel später erreicht — bei 50% der untersuchten Individuen 24 Stunden, bei 50% 48 Stunden nach Versuchsbeginn. Es war gekennzeichnet durch das Auftreten hauptsächlich ellipsoidischer, eine parallel-körnige bis lamellare „Innenstruktur“ aufweisender Sphärolithe. Letztere erwiesen sich zwischen gekreuzten Nikols ebenfalls als doppelbrechend und zeigten das Bertrandsche Auslöschungskreuz.

Closterium lunula (Material Tamsweg): 24. XI. 54.

Die Zellen zeigen lebhafte Plasmaströmung. An den Chloroplasten sind besonders in den Plastidenrippen „Grana“ als in Reihen angeordnete längliche „Körnchen“ (in Profilstellung sichtbare Scheibchen?) deutlich zu erkennen. An den Plastidenrippen sind außerdem sternförmige Körperchen (Kristalldrusen) wahrnehmbar. Innerhalb der Plasmastränge des Hyaloplasmas befinden sich mehrere kleinere Vakuolen mit je einem Gipskriställchen, welches sich in reger B. M. B. befindet. Die Kristalle der Endvakuole sind ebenfalls in reger B. M. B.

14.20 Uhr: Durchsaugen von 2% igem Na-Oleinat.

14.25 Uhr: Der Chloroplast kontrahiert sich, wobei seine Struktur äußerst deutlich sichtbar wird. (Dieses Hervortreten der „Grana“ bei leichter Schädigung der Zelle ist häufig zu beobachten, wie z. B. bei leichtem Druck auf das Deckglas oder Zentrifugieren.)

14.30 Uhr: Es erfolgt ein Ausdehnen des Plastiden, womit gleichzeitig das Auftreten zahlreicher ovaler bis runder, diffus grün erscheinender Vakuolen im Chloroplasten verbunden ist. Das Plasma ist koaguliert und zeigt wabige Degeneration. Die Pyrenoide sind unverändert erhalten, die Membran der Endvakuolen ist zerstört infolge Koagulation des Plasmas und ihre Gipskriställchen befinden sich nunmehr in Ruhe. In einigen

Vakuolen der Zellmitte sind einzelne Gipskriställchen zu beobachten, welche noch rege B. M. B. zeigen.

- 14.45 Uhr: Der Chloroplast kontrahiert sich ein zweites Mal, die Stärkeschollen der Pyrenoide rücken auseinander.
- 14.55 Uhr: Die Chromatophoren der beiden Zellhälften bilden eine einheitliche, tiefgrüne Masse, ihre Struktur aber bleibt erhalten.
- 15.05 Uhr: Der Chloroplast erfährt eine weitere Kontraktion, wobei eine weitgehende Deformation der Plastidenfalten festzustellen ist. „Grana“ noch immer gut sichtbar.
- 15.08 Uhr: Die Plastidenränder sind, vor allem an den Zellspitzen, fibrillär ausgezogen, ein längerer Chloroplastenstrang reicht zu den Kristallen der Endvakuole. Das koagulierte Plasma zieht in dünneren und dickeren Strängen vom Chromatophoren zur Zellwand. Die Pyrenoide sind nur undeutlich zu sehen.

Diese Erscheinungen treten bei verschiedenen Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten ein. Die in demselben Präparat befindlichen Objekte von *Micrasterias rotata*, *M. americana* und *M. fimbriata* zeigten die Ausbildung von Myelinfiguren und Sphärolithen.

- 17.50 Uhr: An *Closterium l.* keinerlei Veränderung zu beobachten. Eine *Closterium*-Zelle am Rande des Präparates wurde durch leichten Deckglasdruck zum Ausfließen gebracht. Das Ausfließen der Plastidensubstanz und des Plasmas erfolgte schubweise und relativ rasch, was auf die dünnflüssige Konsistenz derselben hinweist. Außerhalb der Zelle sammelte sich deren Inhalt zu einer breiigen Masse an, aus der sofort grün gefärbte Myelinfiguren hervorzuwachsen begannen.
- 18.50 Uhr: Es können bereits ringförmige, körnig-lamellare, schlingen- und schleifenförmige Myelinformen an der Plastidensubstanz festgestellt werden.
25. XI. 54, 14.20 Uhr: also 24 Stunden nach Durchsaugen des Reagens: Die Plasmafibrillen haben sich vollkommen von der Zellwand gelöst, koagulierte, körniges Plasma umgibt die Plastidenmasse, die den Großteil des Zellinnenraumes erfüllt. Im Zentrum der Zelle befinden sich Zusammenballungen von Stärkeschollen und grünen Plastidenresten, den Resten der Chloroplastensubstanz, welche sich zu großen, ellipsoidischen und kugeligen, diffus grünen, flüssigen Sphärokristallen entmischt hat. Diese Sphärolithe sind nicht als homogen anzusprechen, vielmehr zeigen sie eine parallel-lamellare Schichtung scheibenförmiger bis ovaler Verdickungen (Abb. 4, 5, 6).

Die Versuche an *Closterium lunula* mußten äußerst vorsichtig durchgeführt werden, da diese Spezies sehr häufig bei Zusatz des Na-Oleates ein sofortiges Aufreißen der Zellmembran in der Zellmitte und dadurch bedingtes Ausfließen des Zellinhaltes beobachten läßt.

Closterium didymotocum zeigte dieselben Erscheinungen wie *Cl. lunula*, nur war hier eine wesentlich frühere Erreichung des Endstadiums der Chloroplastenentmischung festzustellen — dasselbe trat bereits eine Stunde nach Versuchsbeginn ein — sowie die Bildung kleinerer Sphärolithe, bedingt durch die geringere Breite der Zellen dieser Art.

Closterium striolatum unterschied sich dadurch, daß die Lipidentmischung bei Behandlung mit 2%igem Na-Oleat nur selten eintrat, was möglicherweise aus der im Vergleich zu *Cl. lunula* wesentlich zäheren Konsistenz der Chloroplasten erklärbar ist. Letztere zeigt sich bei Aus-

fließen der Plastidenmasse aus der Zelle infolge leichten Druckes auf das Deckglas. Die Chloroplastenmasse bildet eine kompakte Substanz, die nur zögernd in einzelne Teilstücke zerreißt. Bei dünnflüssigen Plastiden können kaum mehr Grana unterschieden werden, vielmehr sammelt sich außerhalb der Zelle eine körnige, breiige Masse an.



Abb. 6. *Closterium lunula*: Endstadium der Lipidentmischung. a im Hellfeld, b zwischen gekreuzten Nikols.

In den in bezug auf Lipidentmischung positiv verlaufenden Fällen konnte ich an *Cl. striolatum* noch 1 Stunde und 45 Minuten nach Zusatz des Reagens sehr lebhaft Plasmaströmung beobachten (!). Nach 24stündiger Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat waren auch hier kugelige oder

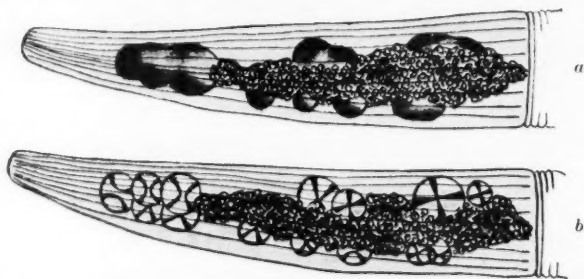


Abb. 7. *Closterium striolatum*, Endstadium der durch 2%iges Na-Oleinat erzielten Sphaerolithbildung. a im Hellfeld, b im Orthoskop.

ellipsoidische Sphaerolithe zu sehen, deren Aussehen bis auf ihre geringere Größe den an *Cl. lunula* beobachteten glich (Abb. 7). In einem Einzelfalle konnte ich zwischen gekreuzten Nikols rotes Aufleuchten — also Erscheinen der zur grünen Farbe des Chlorophylls komplementären Komponente — der gegenüberliegenden Quadranten der Sphaerolithe feststellen. Bei Drehen des Objektisches erschien jeweils das Auslöschungskreuz oder die roten Farbquadranten. Eine Erklärung dieses „Quadranteneffektes“ gaben Frey-Wyssling und Steinmann (1948).

Closterium libellula und *Closterium ulna* zeigten die an *Cl. lunula* beobachteten Erscheinungen.

Closterium rostratum unterschied sich durch die Ausbildung großer Sphärolithe und einer geringen Menge grobkörniger, zurückbleibender Chloroplastenreste.

Auch die Chloroplasten von *Tetmemorus granulatus* konnten zu intensiv diffus grünen Myelinschleifen und Sphärokristallen entmischt werden.

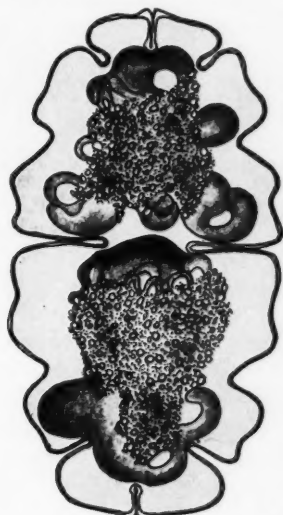


Abb. 8.

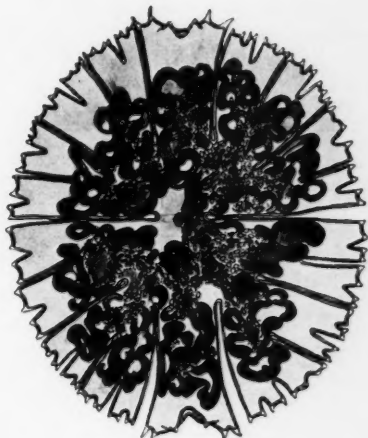


Abb. 9.

Abb. 8. *Euastrum oblongum*. Maximale Ausbildung der Myelinfiguren.

Abb. 9. *Micrasterias rotata*. Fortgeschrittenes Stadium der Myelinfigurenbildung.

wobei letztere im Verhältnis zu den Myelinschleifen in geringerer Anzahl vorhanden waren.

Die Lipidentmischung der Chromatophoren von *Euastrum* brachte im Endstadium derselben die Ausbildung größerer und kleinerer Myelinschleifen und ein oder mehrerer Sphärolithe — im Unterschied zu *Closterium*, bei welchem Sphärolithbildungen vorwiegen (Abb. 8). Als Unterschied zu *Euastrum oblongum* war bei *Euastrum humerosum* die äußerst geringe Menge sehr feinkörniger Plastidenreste und die Kleinheit der Myelinschleifen zu verzeichnen.

Für die bei verschiedenen *Micrasterias*-Arten auftretenden Endstadien der Chloroplastenentmischung waren eine größere Anzahl kugelförmiger Sphärolithe oder aus mehreren Sphärolithen zusammengesetzter Formen charakteristisch. Myelinschleifen konnten im Endstadium nicht mehr festgestellt werden. Die Menge der körnigen Restbestandteile des Zellinhaltes wechselte je nach Spezies und physiologischem Zustand der Zellen.

Die lebenden Chloroplasten sämtlicher untersuchter *Micrasterias*-Arten zeigen deutlich eine Feinstruktur. Bei Beobachtung des Plastiden in Flächenstellung ist die Aneinanderreihung einer Unzahl kleiner scheibchenförmiger Gebilde zu sehen, welche sehr schön in den Plastidenlappen nahe der Zellwand beobachtet werden können. In den mehr oder weniger senkrecht zur Bildebene stehenden Plastidenfalten sind diese „Grana“ als längliche Körperchen — vielleicht als in Profilstellung stehende Scheibchen deutbar — zu sehen. An *Micrasterias denticulata* wurde dies bereits von Hygen (1937) beobachtet. An zentrifugiertem Material trat die Struktur der Chloroplasten noch deutlicher hervor (Abb. 9).

Die Lipidentmischung der Plastiden von *Micrasterias rotata* gelang in sämtlichen untersuchten Fällen bei Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat, wobei sich bei Versuchen mit verschiedenen Materialien Unterschiede ergaben. So bildeten sich in Zellen, welche aus Moorproben aus Vorarlberg stammten, bereits 5–8 Minuten nach Versuchsbeginn die ersten Myelinschleifen, während dieselben an Zellmaterial aus den Hochmooren von Tamsweg erst $\frac{3}{4}$ Stunden nach Zusatz des Na-Oleinates auftraten. Das Endstadium wurde in beiden Fällen nach 24 Stunden erreicht. Ein Versuchsprotokoll möge zur genaueren Erläuterung dienen.

Micrasterias rotata (Material IV/1 — Tamsweg): 16. II. 56.

Vor Beginn des Versuches war rege Plasmaströmung zu verzeichnen, die Struktur des Chloroplasten gut erkennbar und die Zelle voll vital.

16.37 Uhr: Zusatz von 2%igem Na-Oleinat.

16.38 Uhr: Die Plasmaströmung wird noch lebhafter, eher zitternde Bewegung wird vorherrschend, um jedoch wieder in strömende überzugehen.

16.39 Uhr: Auftreten einer Plastidenkontraktion, die Plastidenränder runden sich ab und nur mehr stellenweise sind Auszackungen der Chloroplasten zu sehen, und zwar an Stellen, wo dickere Plasmastränge vom Chloroplasten zur Zellwand ziehen.

16.42 Uhr: Das Plasma quillt auf, erstreckt sich flächig entlang der Zellwand.

16.45 Uhr: Die Plasmabewegung ist äußerst träge, jedoch noch eine Strömung zu verzeichnen. Vakuolenkontraktion trat ein, wodurch 6 Hauptvakuolen und daneben entlang der Zellwand mehrere kleine runde bis ovale Vakuolen, deutlich sichtbar wurden. Über der Zellkernarea kann eine äußerst rege, zitternde Bewegung der Plasmateilchen beobachtet werden.

16.55 Uhr: Das Protoplasma beginnt sich von der Zellwand abzuheben. Nur mehr einzelne dünne Stränge ziehen von den Plasmakuppen zur Zellmembran.

16.56 Uhr: Das gesamte Plasma ist fast vollkommen erstarrt, hie und da befinden sich einzelne Körperchen in B.M.B. Über der Zellkernarea ist noch eine Bewegung feststellbar. Diese erstarrt 16.58 Uhr ebenfalls.

16.58 Uhr: Die Randvakuolen verlieren ihre Form infolge Nachlassens der Oberflächenspannung. Entlang der Zellwand entstehen Zusammenballungen kleiner körniger Plasmaklumpchen. Von letzteren ziehen noch dünne Plasmastränge sowohl zur Zellwand als auch ins Innere der Zelle. Eine wabige Degeneration des Polioplasmas ist feststellbar. Erstarren der Randvakuolen.

- 17.05 Uhr: Eintritt einer weiteren Plastidenkontraktion, wodurch sich Falten in den Randpartien der Chromatophoren bilden, in welchen die „Grana“ in Profilstellung kippen und nun in parallelen Reihen gelagert erscheinen. Die Chloroplastenrandregionen enthalten keine Stärke, während das Innere des Plastiden erfüllt ist von zahlreichen Stärkeschollen, welche erst jetzt deutlich sichtbar werden und ihre Konturen scharf hervortreten. Das Hyaloplasma wird deutlich sichtbar, welches die Hauptvakuolen umschließt, die zu einer einzigen zusammenfließen.
- 17.10 Uhr: Der Chloroplast der einen Zellhälfte fließt ein kleines Stück in die zweite Zellhälfte. Die Konturen der „Grana“ werden undeutlich, ihre Parallellagerung bleibt erhalten.
- 17.14 Uhr: Zurückfließen des Chloroplasten, Nachströmen des zweiten Plastiden der zweiten Zellhälfte.
- 17.15 Uhr: Der Chromatophor ist reich gefaltet, in den Falten Parallellagerung von Stärkeschollen und „Grana“ erkennbar.
- 17.20 Uhr: Die Plastidenfalten erscheinen intensiv dunkelgrün, die Pyrenoide länglich, von der Plastidenmasse zusammengedrückt. Die Randpartien der Chloroplasten sind in zahlreiche Schlingen und Falten gelegt, welche eine parallel-streifige Schichtung erkennen lassen. Beginn der Myelinfigurenbildung bzw. Lipidentmischung.
- 17.40 Uhr: Die Zahl der Schlingen und Schleifen wurde vermehrt. Diese erscheinen nicht homogen, sondern sind erfüllt von runden bis ovalen „Körperchen“, welche stärker lichtbrechend sind als ihre Umgebung, jedoch keine scharfen Konturen erkennen lassen.
- 17.45 Uhr: Dieselben Erscheinungen können an *Micrasterias americana* und *Closterium didymotocum* beobachtet werden, nur ist bei *M. americana* die Myelinbildung weiter fortgeschritten und sind hier hauptsächlich Sphärolithe vorhanden. Auch bei *Cl. didymotocum* sind bereits zum Großteil Sphärolithe ausgebildet.
17. II.: Das Endstadium der Lipoid-Entmischung ist nun erreicht, es sind hauptsächlich sphärolithartige Bildungen erkennbar, stellenweise auch einzelne Schlingen und Schleifen sichtbar. Stellenweise sind die Myelinschleifen mehr oder weniger netzig-lamellar zerklüftet. Zwischen gekreuzten Nikols leuchten die Sphärokrystalle grün auf und zeigen das schwarze Auslöschungskreuz.

Plastiden, welche durch großen Stärkereichtum ausgezeichnet waren, bildeten nur vereinzelt Myelinfiguren.

Micrasterias denticulata verhielt sich bei Behandlung mit Na-Oleat im wesentlichen wie *M. rotata*. Es war nur eine intensivere Grünfärbung der Sphärolithe zu verzeichnen und außerdem traten hier häufiger Vakuolenbildungen innerhalb derselben auf.

Micrasterias truncata, *M. papillifera* und *M. americana* zeigten dieselben Erscheinungen wie die vorangehend beschriebenen Arten dieser Gattung. Auch in bezug auf Eintritt und Ausbildung der Myelinfiguren ergaben sich nur geringe zeitliche Differenzen.

Micrasterias apiculata var. *brachyptera* unterschied sich durch die Bildung je einer größeren Entmischungsfigur in jeder Zellhälfte neben kleineren Myelinformen (Abb. 10).

Die Lipidentmischung der Chloroplasten der Gattung *Desmidium* — die Arten *D. cylindricum* und *D. Swartzii* verhielten sich gleich — brachte in ihrem Endstadium die Ausbildung zahlreicher kleinerer (im Verhältnis zu *Closterien*- oder *Micrasterias*-Arten), durchweg kugelig, intensiv grüner Sphärokristalle (Abb. 11a und b). Zwischen gekreuzten Nikols zeigte sich sehr schön ihre Doppelbrechung und das Erscheinen des Bertrandschen Auslöschungskreuzes.

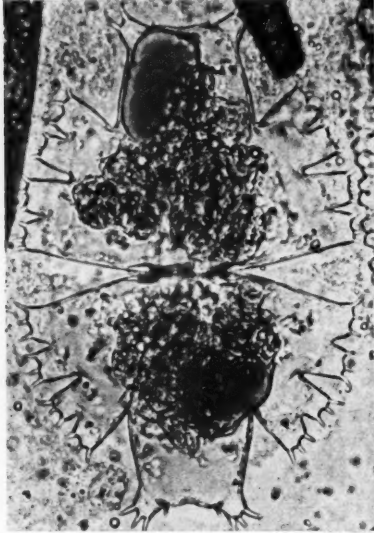


Abb. 10. *Micrasterias apiculata* var. *brachyptera*. Endstadium der Lipidentmischung.

Die maximale Ausbildung der Entmischungsformen, hervorgerufen durch Behandlung mit 2%igem Na-Oleinat, war bei *Hyalotheca dissiliens* var. *hians* durch das Auftreten je eines großen, intensiv grünen, meist kugeligen Sphärokristalls in den einzelnen Zellen gekennzeichnet. An körnigen Zellinhaltsresten blieb hier sehr wenig zurück (Abb. 12).

Die Chloroplasten von *Gymnozyga moniliformis* entmischten sich bei Zusatz von Na-Oleinat zu je einem größeren, nicht gänzlich kugeligen Sphärolithen in jeder Zellhälfte, wobei kleinere Zusammenballungen körniger Zellinhaltsreste zurückblieben.

Xanthidium armatum bildete Sphärolithe vom *Micrasterias*-Typus.

4. Chlorophyceen

a) *Protococcales*: Als Vertreter dieser Ordnung wurden *Eremosphaera viridis* und *Oocystis solitaria* zu den Entmischungsversuchen der Chloroplasten herangezogen. Bedingt durch die Kugelform ihrer Zellen, waren bei *Eremosphaera* die räumlich besten Verhältnisse zur Ausbildung der Entmischungsformen gegeben. So konnten auch an dieser Spezies große Mengen großer, diffus grüner, kugelig und ellipsoidischer Sphärolithe neben zahlreichen kleinen Myelinschleifen und -ringen beobachtet werden. Das Zentrum der Zellen war erfüllt von Zusammenballungen körniger Plasma- und Plastidenreste. *Oocystis solitaria* unterschied sich durch das Fehlen von Sphärolithen im Endstadium der Plastidentmischung und durch das Vorhandensein nur geringer Mengen grobkörniger Zellinhaltsreste.

b) *Ulothrichales*: Auch die Chloroplasten von *Ulothrix* sp. zeigten bei Behandlung mit Na-Oleinat die Entmischung zu hauptsächlich kugeligen, diffus grünen Sphärokristallen.

c) *Siphonocladiales*: Hier ist vor allem *Cladophora glomerata* zu nennen, welche im Vergleich zu den untersuchten Arten anderer Gattungen ein völlig abweichendes Verhalten zeigte. Das Endstadium der Entmischungs-



Abb. 11 a.

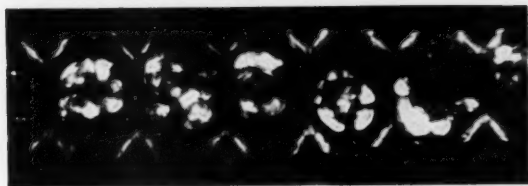


Abb. 11 b.

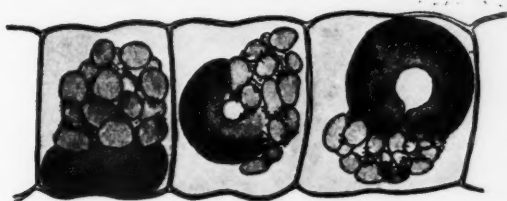


Abb. 12.



Abb. 13 a.



Abb. 13 b.

Abb. 11. *Desmidium cylindricum*. Sphärolithbildungen. a im Hellfeld, b zwischen gekreuzten Nikols.

Abb. 12. *Hyalotheca dissiliens*. Sphärolithbildung.

Abb. 13. *Nitzschia sigmoidea*. Endstadium der Chloroplastenentmischung. a im Hellfeld, b zwischen gekreuzten Nikols.

vorgänge wurde 22 Stunden nach Versuchsbeginn erreicht, wobei eine Aufquellung der Membranschichten festzustellen war. Hierbei hatten sich die Zellquerwände diffus grün gefärbt, die Zelllängswände ließen sehr deutlich ihre Schichtung erkennen und innerhalb ihrer äußersten enorm aufgequollenen Lamelle hatten sich intensiv grüne Myelinfiguren gebildet. Stellenweise

enthielt dieselbe eine feinkörnige grüne Masse, an deren Grenzschichte sphärolithähnliche Gebilde hervorwuchsen. Die Zellen waren erfüllt von körnigen Plasma- und Plastidenresten und enthielten in ihrem Zentrum zahlreiche intensiv grüne, zungenförmige oder ellipsoidische Entmischungsformen. Die polarisationsmikroskopische Untersuchung ergab Doppel-

brechung der im Innern der Zellen und auch der innerhalb der äußersten Membranlamelle befindlichen Entmischungsgebilde — letztere entstanden vermutlich durch Reaktion des eingedrungenen Na-Oleates mit ausgetretenem Zellinhalt, möglicherweise auch lipidreichem Zellsaft —, wobei dieselben ebenfalls das schwarze Sphärithekrenz erkennen ließen (Abb. 14).

Versuche der Lipidentmischung an bereits vor Versuchsbeginn geschädigten Zellen verliefen negativ. 24 Stunden nach Versuchsbeginn waren die Zellen von koagulierte Plasma und Plastidenmasse erfüllt, die Zellwandlamellen aufgequollen, jedoch farblos und

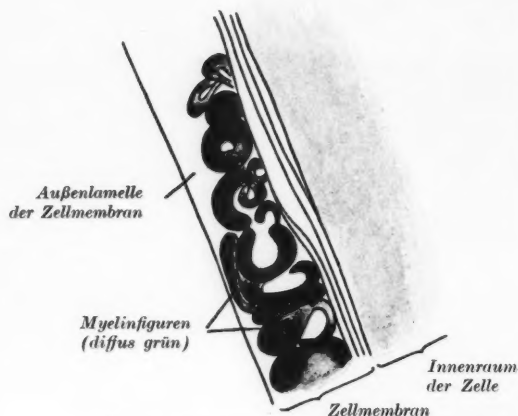


Abb. 14. *Cladophora glomerata*. Behandlung mit 2%igem Na-Oleat. Myelinfigurenbildung innerhalb der äußersten Membranlamelle.

enthielten keine Myelinfiguren. 2 Tage später, während welcher die Präparate in einer feuchten Kammer aufbewahrt wurden, hatten sich innerhalb der enorm konvex abgehobenen äußersten Membranschichte tropfenförmige und ellipsoidische Aggregate gebildet, die farblos waren und zwischen gekreuzten Nikols keine Doppelbrechung zeigten.

5. Diatomeen

Auch die Chromatophoren der Diatomeen ließen sich durch Behandlung mit 2%igem Na-Oleat entmischen. Es zeigten sich dieselben Stadien des Entmischungsvorganges, wie dies bereits beschrieben wurde, nur war hier auch die Umfärbung der Plastiden in Grün und das Hervortreten einer groben Körnelung zu beobachten. Allmählich waren aus den Plastiden dicht gedrängt zahlreiche kurze und relativ dünne Schlingen, S-förmig gekrümmte Formen, spiralig gewundene Schleifen und auch ringförmige Bildungen hervorgewachsen. 24 Stunden nach Versuchsbeginn konnte auch hier die Ausbildung intensiv grüner Myelinfiguren und Sphärolithe beobachtet werden. Diese Erscheinungen zeigten sich bei Versuchen an *Anomoeoneis sphaerophora*, *Gyrosigma acuminatum*, *Pinnularia nobilis* und *Melosira varians*.

Die Gattung *Nitzschia* zeigte im Vergleich zu den übrigen untersuchten

Diatomeen-Arten ein abweichendes Verhalten. Die ersten Myelinfiguren, intensiv grüne, sehr kleine Myelinschleifen, entwickelten sich hier bereits 10 Minuten nach Zusatz von Na-Oleinat, also bedeutend früher als bei anderen Arten und Gattungen. Durch weitere Plastidentmischung entstanden schließlich flächige, bizarr geformte Gebilde, die zwischen gekreuzten Nikols ihre Zusammensetzung aus Sphärökristallen erkennen ließen (Abb. 13). Diese Beobachtungen konnten sowohl an *Nitzschia sigmoidea* als auch an *Nitzschia linearis* gemacht werden.

6. Orientierende Versuche an Kormophyten

Versuche der Lipidentmischung der Chloroplasten mit den Laubmoosen *Mnium punctatum* und *Hookeria lucens* verliefen negativ.

Selaginella, ein Vertreter der Lycopodiinae, ließ bei Behandlung mit Na-Oleinat ebenfalls die Entmischung der Chloroplasten beobachten,

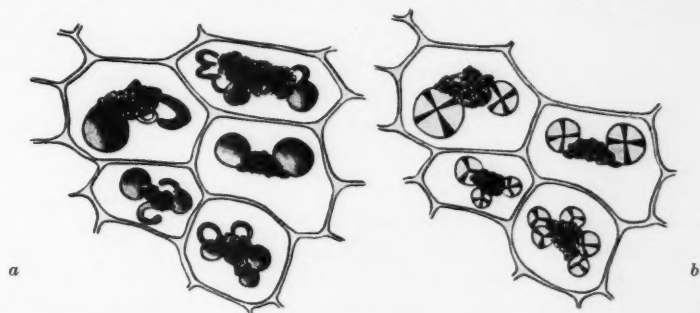


Abb. 15. *Aspidistra elatior*. Maximale Ausbildung der durch 2%iges Na-Oleinat aus den Chloroplasten hervorgegangenen Entmischungsformen. a im Hellfeld, b im Orthoskop.

wobei sich anfänglich gleichfalls Myelinschleifen entwickelten, um sich sodann zu kugeligen Gebilden umzuformen.

Aspidistra elatior zeigte dieselben Erscheinungen, nur war eine lange Dauer des Entmischungsvorganges zu verzeichnen. Noch 2 Stunden nach Zusatz des 2%igen Na-Oleinates konnte Plasmaströmung festgestellt werden, von welcher die länglich walzenförmig gequollenen Plastiden mitgeschleppt wurden. Das Endstadium der Entmischung wurde auch hier mit der Bildung von Sphärökristallen erreicht (Abb. 15).

Bei sämtlichen untersuchten Arten und Gattungen waren somit im Laufe der Lipidentmischung der Chloroplasten dieselben Stadien zu erkennen. Nach dem wabigen Erstarren des Protoplasmas und einer Vergrößerung der Plastidenstruktur trat in den meisten Fällen die Quellung der Chloroplasten ein. Die Desmidiaceen bilden hier eine Ausnahme, sie zeigten Plastidenkontraktion und je nach Spezies geringere oder heftigere Bewegung der Chromatophoren in die andere Zelhälfte und zurück. Auf das Hervorwachsen der ersten Schlingen und Schleifen aus der Plastiden-

oberfläche folgte in je nach Spezies verschiedenen Abständen die Ausbildung flüssiger Sphärokristalle.

Bei leichter Schädigung der Zellen tritt eine Beschleunigung vor allem der Anfangsstadien der Entmischung ein, bei stärkerer Schädigung eine Verzögerung der Myelinfigurenbildung. An toten Zellen ist eine Entmischung nicht mehr möglich, da bereits eine Zersetzung der am Aufbau der Chloroplasten beteiligten Stoffe eingetreten ist. Sowohl in Hinsicht auf Entstehung als auch auf die Gestalt der Entmischungsformen lassen sich gattungs- und auch artspezifische Unterschiede erkennen. Sie erklären sich wohl zum Teil aus der Relation zur jeweiligen Zellform.

Die Bildung von Myelinfiguren aus Chloroplasten tritt ebenfalls ein bei Behandlung mit Na-Desoxycholicum und, wie Menke (1953) berichtete, auch durch Harnstoff, Na-Glycocholicum, Na-Karbonat, sek. Na-Phosphat und KOH. Weiters berichtet Menke über die Bildung farbloser Myelinschlingen bei Anwendung geringer Konzentrationen von KOH. Eibl (1940) beobachtete eine reversible Entstehung farbloser Tröpfchen auf den Chromatophoren von *Spirogyra* bei Zusatz stark verdünnter K-Oleatlösung, welche möglicherweise aus dem Stroma oder aus einer lipidreichen Oberflächenschichte der Chloroplasten stammen könnten.

Im wesentlichen entsprachen die durch Na-Oleinat hervorgerufenen Entmischungsvorgänge an Algen-Chloroplasten den an höheren Pflanzen zu beobachtenden Erscheinungen, abgesehen von den bereits erwähnten gattungsspezifischen Unterschieden. Sie sind vermutlich als Quellmischungsvorgänge deutbar. Bei stark hydrophilen Lipiden, wie z. B. Lezithin, ordnen sich die Molekel — in diesem Falle also die polaren Lezithinmolekel, bestehend aus zwei Paraffinketten, welche die hydrophobe Fettsäure darstellen, und dem hydrophilen Phosphorsäure-Cholin-Teil — bereits in Gegenwart von Wasser zu bimolekularen Schichtensystemen, den Myelinfiguren (vgl. Haas 1955). Bei Vergrößerung der submikroskopischen Wasserschichten zwischen den Lipidlamellen kann es zu einer Aufblähterung der Myelinschläuche kommen. So könnte das oft zu beobachtende Auftreten einer netzig-lamellaren Struktur der aus Chloroplasten hervorgegangenen Sphärolithe erklärt werden. Frey-Wyssling (1937) schließt aus der Tatsache, daß die in Chloroplasten vorhandene Lipidmasse durch Wasserzusatz allein noch nicht zum Quellen gebracht, jedoch bei Aufnahme von Na-Salzen der Ölsäure oder Glykoll, ebenso Harnstoff (welche Reagenzien aus lipophilen Molekülen mit hydrophilen Gruppen bestehen) zur Wassereinlagerung veranlaßt werden kann, daß die Chloroplastenlipide keine freien hydrophilen Gruppen, wohl aber maskierte enthalten. Denn bei Verseifung mit Salzsäure, Soda- oder Kalilauge quellen sie zu Myelinfiguren heran. Auch Liebaldt (1913) beobachtete bei ihren Versuchen über Quellung der Chlorophyllkörner durch wässrige Lösungen von Alkohol, daß Wasser nicht ohne weiteres in die Chromatophoren eindringen kann. Nach Menke und Menke (1955) sind die Proteine und Lipide im Chloroplasten in Form von Lamellen angeordnet, wobei jede Proteinlamelle zwischen zwei Lipiddoppellamellen liege.

Mehrere solcher Lamellengruppen sollen im Chromatophoren zu Schichten zusammengefaßt sein, welche die Grana der Chlorophyllkörner tragen. Es ist nun wohl anzunehmen, daß die am Aufbau der Chloroplasten beteiligten Lipide eng an Proteine gebunden sind und daher erst bei Lockerung dieser Bindung durch Einlagerung lipophiler Na-Oleinat-Molekel das Heranquellen zu Myelinfiguren ermöglicht wird. Dies würde demnach also nicht nur für die Chlorophyllkörner der höheren Pflanzen zutreffen, sondern auch für die Plastiden der Algen.

Für das vorwiegende Vorhandensein des Glycerinphosphatids Lezithin in Pflanzenchloroplasten spricht auch die Tatsache der Bildung ebensolcher Myelinformen aus reinem Lezithin bei Zusatz von Wasser oder Na-Oleinat. Auch mischen sich nach Smith (1932) die flüssig kristallinen Hydrate von Oleaten mit den flüssigen Kristallen von Lezithin.

Einen Beweis der lipiden Natur der die Myelinfiguren und Sphärolithe bildenden Chloroplastenstoffe erbrachte Menke (1934) durch seine Versuche der Lösung dieser Stoffe in Lipidlösungsmitteln. Der vom Lösungsmittel befreite Extrakt gab mit $1/100$ molarer KOH die bekannten Gebilde.

Das in den Sphärolithen gelöste Chlorophyll fluoresziert rot, was nach Stern (1920) für seine echte lipide Lösung in denselben spricht.

Wenn die Beobachtungen Menkes (1933) der lokalen Entstehung der Myelinfiguren aus den Grana bei *Polygonatum officinale* für sämtliche höhere Pflanzen zutreffen würde, müßte das abweichende Verhalten der Algen-Chloroplasten hervorgehoben werden. Versuche an Desmidiaceen-Chromatophoren zeigten, daß die Figuren und Sphärolithe aus dem gesamten Chloroplasten unter allmählicher innerer Entmischung und Verschwinden der Granastruktur hervorgehen.

Die Myelinfiguren und Sphärolithe sind deutlich doppelbrechend, wobei sie zwischen gekreuzten Nikols bereits bei orthoskopischer Betrachtung das schwarze Auslöschungskreuz aufweisen, sich also wie Sphärokrystalle verhalten. Ihre Doppelbrechung ist erklärbar durch ihre Lamellenstruktur und durch die Anisotropie der Lipide. Die Myelinschläuche von Na-Oleinat, Lezithin oder anderen Lipiden zeigen positiv einachsige Eigendoppelbrechung, welche nach Ambrohn und Frey (1926) eine Körpereigenschaft der Teilchen ist, zurückführbar auf optisch anisotrope Moleküle, die sich zu Mizellen oder Mizellarverbänden zusammenlegen. Hier rührt sie offenbar von den parallel liegenden Paraffinketten her, die auf der Lamellenebene senkrecht stehen. Daneben zeigen die Myelinfiguren und Sphärolithe negativ einachsige Formdoppelbrechung, welche sich bei hydrophilen Lipiden, in die schon Wasser eingedrungen ist, bemerkbar macht, da solche wasserhaltige Systeme wie Wienerische Schichtenmischkörper wirken (Schmidt 1937, 1951). Mit fortschreitender Quellung kann die Eigendoppelbrechung durch die Formdoppelbrechung überlagert werden. Die Feststellung, daß Myelinschläuche je nach ihrem Quellungszustand negativ, isotrop oder positiv doppelbrechend sein können, wurde erstmals von Nageotte (1931) gemacht.

Weber (1936) beobachtete an *Anthoceros laevis* bei Behandlung mit 1% Na-Oleinat die Abnahme der Doppelbrechung der Chloroplasten in

dem Maße, als aus denselben die grünen, anisotropen Myelinschläuche austraten, und schließt daraus, daß die Doppelbrechung lebender Chloroplasten auf die an ihrem Aufbau beteiligten Lipide zurückzuführen ist. Auch bei der Chloroplastenentmischung der Algen ergab sich die Doppelbrechung allein der Entmischungsformen, während zwischen gekreuzten Nikols keine Aufhellung des zurückbleibenden körnigen Restbestandes festzustellen war.

II. Untersuchung der aus Algen-Chloroplasten hervorgegangenen Sphärolithe

1. Färbeergebnisse mit basischen Farbstoffen

Die durch Lipidentmischung mit Na-Oleinat aus den Chloroplasten entstehenden Sphärolithe nahmen sämtliche untersuchte Farbstoffe diffus auf. In erster Linie sind hier die Lipidfarbstoffe zu nennen, wie Rhodamin B, Chrysoidin und Nilblausulfat. Aber auch Farbstoffe wie Toluidinblau, die bei neutraler Reaktion ionisiert sind, wurden von ihnen gespeichert.

Vital speichern die Chloroplasten von den zu den Versuchen herangezogenen Farbstoffen nur Rhodamin B intensiv. Die übrigen werden von den Plastiden nur in Nekroestadien aufgenommen.

Rhodamin B, ein vorwiegend in undissoziierter Form, also als elektrisch neutrales Molekül, vorliegender Farbstoff, wird von den Sphärolithen in kürzester Zeit aufgenommen. So sind die Myelinfiguren und Sphärolithe der Desmidiaceen nach einer Färbezeit von 4–5 Minuten orangerot, nach 25 Minuten intensiv weinrot gefärbt. Die körnigen Plasmareste färben sich karminrot an. Die Färbeergebnisse bei verschiedenen Algen möge folgende Tabelle wiedergeben (Tab. 1, S. 215).

Zur Tabelle 1: Weinrot = Farbton 7 (nach der kleinen Farbmeßtafel nach Ostwald¹); Karminrot = Farbton 9.

Nach Durchsaugen von destilliertem Wasser zeigen die mit Rhodamin B gefärbten Myelinfiguren und Sphärolithe eine Deformation, Veränderung der Schlingen und Schleifen und Bildung neuer Formen, deren Gestalt den primären gleicht, die Färbung jedoch bleibt unverändert erhalten.

Closterium striolatum zeigte ein abweichendes Verhalten. Schon bei Zusatz des Na-Oleinates platzten mehrere Individuen in der Zellmitte. Nach Durchsaugen des Farbstoffes konnte nun am Großteil der vorhandenen Zellen das plötzliche Auseinanderfallen der beiden Membranhälften und ein „Ausschlüpfen“ der Protoplasten samt den in denselben befindlichen Chromatophoren beobachtet werden. Beim Ausschlüpfen dehnen sich die Protoplasten enorm aus — der Länge nach um die halbe bis einfache Zelllänge, der Breite nach um die halbe bis ganze Dicke normaler Zellen. Ein Teil der stark vergrößerten Protoplasten, in deren Inneren noch deutlich die körnigen Plastidenreste zu erkennen waren, hatte sich weinrot gefärbt. Der andere Teil war grell karminrot gefärbt und enthielt intensiv

¹ Die kleine Farbmeßtafel nach Wilhelm Ostwald (Ausgabe C). Verlag „Muster-Schmidt“ K.-G., Göttingen.

karminrote, ihrer Lage und Gestalt nach den Pyrenoiden entsprechende Bereiche.

Die aus den Chloroplasten von *Micrasterias rotata* entstandenen Myelinfiguren färbten sich nach Ausfließen des Zellinhaltes intensiv weinrot, wobei

Tab. 1.

Rhodamin B 1:1000, gel. in Aqua dest.

Spezies	Färbezeit Min.	Farbton der	
		Myelinfiguren und Sphärolithe	Plasmarest
<i>Micrasterias rotata</i>	50	weinrot	intensiv karminrot
<i>Micrasterias rotata</i>	5	orangerot	
<i>Micrasterias truncata</i>	25	weinrot	leicht karminrot
<i>Micrasterias fimbriata</i>	25	weinrot	karminrot
<i>Micrasterias americana</i>	25	weinrot	karminrot
<i>Micrasterias denticulata</i>	25	int. weinrot	karminrot
<i>Tetmemorus granulatus</i>	25	weinrot	
<i>Closterium striolatus</i>	25	weinrot	karminrot
<i>Closterium didymotocum</i>	30	weinrot	karminrosa
<i>Closterium lunula</i>	30	weinrot	karminrot
<i>Euastrum oblongum</i>	25	weinrot	
<i>Gymnozyga</i> sp.	25	weinrot (int.)	int. karminrot
<i>Netrium digitus</i>	4	orangerot	
<i>Netrium digitus</i>	10	weinrot	karminrot
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	2	orangerot	
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	17	weinrot	karminrosa

die Färbung jedoch bald in eine karminrote überging. Die Myelinfiguren kugelten sich auch außerhalb der Zellen bald zu zahlreichen, kleinen, diffus karminroten Sphärolithen ab. Innerhalb der Zellen bleibt die weinrote Färbung tagelang erhalten.

Mit Rhodamin B vitalgefärbte Chloroplasten von *Micrasterias denticulata* entfärbten sich bereits 2 Minuten nach Zusatz von 2%igem Na-Oleinat. Die karminrote Zellwandfärbung dieses Objektes blieb etwas länger erhalten. Auch die lebenden Plastiden von *Netrium digitus*, welche sich vital mit Rhodamin B intensiv weinrot angefärbt hatten, zeigten sofort nach Zusatz des Na-Oleinates Entfärbung und bildeten 10 Minuten nach diesem Zeitpunkt intensiv grüne Entmischungsfiguren. Das aus den Zellen ausgetretene Rhodamin B blieb in deren Umgebung einige Zeit sichtbar.

Tab. 2. *Chrysoidin*.

Objekte	Chrysoidin (Aqua dest.)	Färbezeit Min.	Farbton der	
			Myelinfiguren und Sphärolithe	Plasma- reste
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 5000	10		ockergelb
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 2000	10	gelbbraun	ockergelb
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 1000	3	rotbraun	int. gelb (Pl. zus. ballg. gelbrot)
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 1000	5	int. gelbrote Ent- mischungskugeln u. braunrote Plasti- denmasse	int. gelb (Pl. zus. ballg. gelbrot)
<i>Micrasterias fimbriata</i>	1: 1000	5	dunkelgelb	
<i>Micrasterias fimbriata</i>	1: 1000	10—15	int. gelbrot	goldgelb
<i>Micrasterias fimbriata</i>	1: 1000	20	(Auflösung d. Ent- mischungsfiguren) „Entfärbung“: gelbrot—goldgelb	
<i>Hyalotheca dissiliens</i> var. <i>hians</i>	1: 5000			
<i>Hyalotheca dissiliens</i> var. <i>hians</i>	1: 1000	5	orangerot	gelb
<i>Hyalotheca dissiliens</i> var. <i>hians</i>	1: 1000	10—15	int. gelbrot	goldgelb
<i>Closterium lunula</i> ¹	1: 1000	sofort		ockergelb
<i>Closterium lunula</i>	1: 1000	2	braungelb	ockergelb
<i>Closterium lunula</i>	1: 1000	5	braunrot (Plastidenmasse)	ockergelb
<i>Closterium lunula</i>	1: 1000	14	braunrot	ockergelb
<i>Tetmemorus granulatus</i>	1: 1000	2	dunkelgelb	ockergelb
<i>Netrium digitus</i>	1: 1000	20	weitere Entmischung zu bizarr geformten, int. gelbroten Ge- bilden erfolgt	dunkelgelb
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 1000	25	int. gelbrot	orange gelb
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 2000	1	dunkelgelb	ockergelb
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 2000	5	orange gelb	ockergelb
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 2000	6	gelbrot	ockergelb
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 2000	14	Plastidenmasse gelb- rot, einzelne Lipid- kugeln gelbrot, Groß- teil d. Sphärolithe aufgelöst	ockergelb

¹ Stadium der Myelinentmischung knapp vor Bildung der Sphärolithe (verquollene Plastidenmasse).

Die starke Diffusfärbung mit Rhodamin B, einem ausgesprochenen Lipidfarbstoff, deutet auf das Vorhandensein von Lipiden. Nach Drawerts Versuchen (Drawert 1939) wird Rhodamin B in organischen Lösungsmitteln wie Chloroform und Toluol farblos gelöst. Bei Zusatz von Ölsäure tritt eine ziegelrote Speicherung ein.

Tab. 3. Nilblau.

Objekte	„Nilblau-sulfat“	Färbezeit Min.	Farbton der		
			Myelinfiguren und Sphärolithe	Plastiden- reste	Plasma- reste
<i>Spirogyra</i> sp. a (einbändig, sehr schmal)	1: 18.000 pH = 10,7	sofort		blaugrün	hellblau
<i>Spirogyra</i> sp. a (einbändig, sehr schmal)	1: 18.000 pH = 10,7	6	teilweise blaugrün	blaugrün	hellblau
<i>Spirogyra</i> sp. a (einbändig, sehr schmal)	1: 18.000 pH = 10,7	60	intensiv dunkel- blau	blaugrün	hellblau
<i>Spirogyra</i> sp. b (einbändig, mittelbreit)	1: 18.000 pH = 10,7	60		blaugrün	hellblau
<i>Spirogyra</i> sp. c (einbändig, sehr breit)	1: 18.000 pH = 10,7	60			hellblau
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 30.000 pH = 10,7	60	intensiv blaugrün	blaugrün	hellblau
<i>Netrium digitus</i>	1: 30.000 pH = 10,7	60	blaugrün (geringere Speicherg. als bei <i>Spirogyra</i>)		
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 10.000 pH = 10,7	60	dunkel blaugrün		hellblau
<i>Micrasterias americana</i>	1: 10.000 pH = 8,3	60	blaugrün		
<i>Micrasterias fimbriata</i>	1: 10.000 pH = 8,3	60	blaugrün		
<i>Tetmemorus gran.</i>	1: 10.000 pH = 10,7	60	dunkel blaugrün		

Chrysoidin, ebenfalls ein Lipidfarbstoff, wurde von den Entmischungsfärbungen sämtlicher untersuchter Pflanzen intensiv gespeichert. Eine Übersicht der Färbung der Sphärolithe an verschiedenen Pflanzenarten gibt Tabelle 2 (S. 216).

Zur Tabelle 2: Gelbrot (Myelinfiguren und Sphärolithen) = Farbton 6 (Farbmeßtafeln nach Ostwald); Dunkelgelb (Plasma) = 2; Ockergelb (Plasma) = 3.

Auffallend ist die Ähnlichkeit der an den meisten Objekten beobachteten Färbungen mit der Aufnahme von Chrysoidin durch Myelinfiguren

und Sphärolithe, welche bei Zusatz von Wasser zu Lezithin entstehen. Letztere färben sich bei Zusatz von Chrysoidin (1:1000, gelöst in Aqua dest.) anfänglich intensiv gelb, bilden auch gelbe kugelige Formen, welche bei weiterer Farbspeicherung orangerote und schließlich intensiv gelbrote Farbe zeigen.

Nilblau, ein basischer Farbstoff, welcher von Lipiden diffus gespeichert wird, wurde ebenso von den Sphärolithen sämtlicher untersuchter Objekte aufgenommen. Auch eine intensive Färbung der Plastiden- und Plasmareste konnte festgestellt werden. Die Ergebnisse einiger Versuche bringt Tabelle 3.

Zur Tabelle 3: Blaugrün = Farbton 18—19 (nach Ostwald); Dunkelblau = Farbton 16; Hellblau = Farbton 14.

Closterium lunula, eine gegenüber chemischen Reagenzien sehr empfindliche Desmidiacee, war schwierig zu färben. Sofort bei Zusatz des Farbstoffes trat das Platzen der Zellen in der Zellmitte und der Austritt des Zellinhaltes ein. Das ausgetretene Plasma färbte sich sofort blau, die ausgetretene Myelinmasse türkisblau.

Die Speicherung von Nilblausulfat durch die Entmischungsfiguren im Farbton der ionisierten Form dieses Farbstoffes spricht gegen das Vorhandensein von Neutralfetten in denselben und weist vielmehr auf die Anwesenheit von polaren Lipiden hin. Conn (1953) berichtet: „Nile Blue Sulfate serves to distinguish between the free fatty acids in histological material and the neutralized fats, the former staining blue, the latter red.“ Nach Czaja (1953) färben sich die in stark verdünnter Lösung von sek. Na-Phosphat (pH = 8,5) suspendierten Tröpfchen einer höheren Fettsäure mit Nilblausulfat deutlich blau. Hervorzuheben sind seine Beobachtungen, daß Emulsionen des Handelslezithins den gleichen Effekt hervorrufen.

Die von mir beobachtete blaugrüne Färbung der Sphärolithe kommt vermutlich durch das Zusammenwirken von Chlorophyll und Nilblau zustande. Dafür würde die fast rein blaue Färbung bei *Spirogyra* sp. a — wie oben beschrieben — sprechen, deren Plastidenbänder sehr zart grün gefärbt waren, also wenig Chlorophyll enthielten.

Neutralrot, ein basischer, kathodischer Farbstoff, ist im sauren Bereich bis pH 7 dissoziiert. Seine Kationen zeichnen sich durch kirschrote Eigenfarbe aus, während die Farbbase in Wasser beschränkt in gelboranger Farbe löslich ist. Die Kationen sind hydrophil, die Basenmoleküle lipophil — in Toluol, Toluol und Ölsäure quantitativ löslich (Drawert 1940; Strugger 1949).

Von den Myelinfiguren und Sphärolithen mehrerer Demidiaceen-, Mesotaeniaceen- und Zygnemataceen-Arten wurde auch dieser Farbstoff bevorzugt aufgenommen. Es war eine intensiv gelbrote Färbung der Entmischungsformen mit Neutralrot (1:10.00 gelöst in Leitungswasser) zu verzeichnen (Gelbrot = Ton 6 nach Ostwald). Die zu beobachtende braunrote Farbe der Desmidiaceen-Sphärolithe ist wohl als Mischfarbe zwischen Neutralrot und Chlorophyll anzusehen. Die Zusammenballungen der Plasmareste zeigten karminrote Färbung (= Farbton 10 nach Ostwald).

Tab. 4. Neutralrot.

Objekte	Neutralrot (gel.inLeitgs.- Wasser)	Färbezeit Min.	Farbton der	
			Myelinfiguren und Sphärolithe	Plasma- reste
<i>Spirogyra</i> sp. (einbändig)	1: 10.000	15	gelbrot	karminrot
<i>Netrium digitus</i>	1: 10.000	36	int. gelbrot	
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 10.000	36	gelbrot bis braunrot	
<i>Xanthidium armatum</i>	1: 10.000	38	braunrot	
<i>Closterium lunula</i>	1: 10.000	38	braunrot	
<i>Spirogyra</i> sp. x (mehrbändig)	1: 10.000	15	keine Myelinfig., sondern aufgequol- lene Plastiden: int. himbeerrot	

Zur Tabelle 4: Gelbrot = Farbton 6 (Farbtafeln nach Ostwald); Karminrot = Farbton 10.

Brillantcresylblau und Toluidinblau werden gleichfalls von den durch Behandlung mit Na-Oleat erzeugten Entmischungsfiguren gespeichert, und zwar nicht im Farbton der Farbbasis, sondern in der Farbe der ionisierten Form. Auch daraus ist zu schließen, daß wir es hier nicht mit Neutralfetten zu tun haben (vgl. Drawert 1940; Czaja 1933).

Brillantcresylblau färbte Sphärolithe durchweg türkisgrün bis türkisblau, Toluidinblau blaugrün. Es folgt eine Zusammenstellung der Färbegergebnisse an verschiedenen Pflanzenarten.

Zur Tabelle 5: Blaugrün = Farbton 21 (Farbmeßtafeln nach Ostwald); Himmelblau = Farbton 16.

Zur Tabelle 6: Blaugrün = Farbton 18 (Farbmeßtafeln nach Ostwald); Blau = Farbton 13.

In *Spirogyra*-Zellen (das Material stammte aus einem Tümpel in der Nähe von Illmitz/Neusiedlersee) trat bei Färbung mit Toluidinblau 1:1000 (gelöst in Aqua dest.) bei längerem Belassen in der Farblösung sehr bald eine tropfige Entmischung der Sphärolithe ein. Hierbei bildeten sich aus den großen kugeligen Gebilden mehrere kleinere dunkelviolette Tropfen. Ähnliches konnte auch an *Hyalotheca dissiliens* var. *hians* beobachtet werden, wo jedoch keine Tröpfchen, sondern bizarr gestaltete Formen auftraten. Die Entmischungsgebilde von *Netrium digitus* zerfallen bei Färbung mit Toluidinblau 1:10.000 zu kleineren eckig-bizarren, intensiv blaugrünen Teilstücken.

Myelinfiguren und Sphärolithe, welche sich durch Zusatz von Wasser zu Pflanzenlezithin aus demselben gebildet hatten, färbten sich mit Toluidinblau 1:1000 blaugrün bis violett. Die am Rande des Lezithintropfens befindlichen zarten kleinen Myelinschleifen zeigten violette, die innerhalb dieser Schichte liegenden dickeren Myelinfiguren und Sphärolithe türkisblaue Färbung. Dasselbe zeigten die aus Lezithin entstandenen Figuren bei Färbung mit Brilliantcresylblau 1:1000 (gelöst

in Aqua dest.), wobei sich die äußerste körnige, von kleinen kugeligen Formen durchsetzte Lezithinschicht violettblau, die in der tieferen Schicht gebildeten Myelinformen und Sphärolithe himmelblau färbten.

Toluidinblau und Brillantresylblau werden von den Entmischungsformen — wie aus folgenden Tabellen ersichtlich — nicht im Farbton

Tab. 5. Brillantresylblau.

Objekte	Brillanteresylblau	Färbezeit Min.	Farbton der	
			Myelinfiguren und Sphärolithe	Plasma- reste
<i>Spirogyra</i> sp. a	1: 10.000 pH = 10,7		himmelblau	
<i>Spirogyra</i> sp. b	1: 10.000 pH = 10,7		türkisblau	
<i>Spirogyra</i> sp. c	1: 10.000 pH = 10,7		blaugrün	
<i>Netrium digitus</i>	1: 10.000 pH = 10,7		blaugrün	
<i>Closterium lunula</i>	1: 10.000 pH = 10,7	25	int. blaugrün (Myelinfig. deformiert)	hell türkisblau
<i>Closterium lunula</i>	1: 10.000 (Aqua dest.)	5	blaugrün	blau
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 5000 pH = 10,7	6		hellblau
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 5000 pH = 10,7	12	leicht blaugrün	
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 2000 pH = 10,7	14	int. blaugrün	dunkel himmelblau
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 1000 (Aqua dest.)	sofort		türkisblau
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 1000 (Aqua dest.)	5	türkisgrün	himmelblau
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 1000 (Aqua dest.)	10	dunkel türkisgrün	hellblau violett
<i>Mougeotia</i> sp.	1: 1000 (Aqua dest.)	30—60	türkisblau	

der Farbbase, sondern in dem der ionisierten Form gespeichert. Daraus ist zu schließen, daß es sich bei den in den Sphärolithen und somit auch in den Chloroplasten vorhandenen Lipiden nicht um Neutralfette handelt. Vielmehr zeigen die Modellversuche mit Pflanzenlezithin sowie die Versuche von Drawert (1940), betreffend die Lösung der untersuchten Farbstoffe in organischen Lösungsmitteln bei Zusatz von Ölsäure, daß die erhaltenen Färbeargebnisse einerseits bei freien Fettsäuren, andererseits bei Phosphatiden, wie z.B. Lezithin, auftreten.

Tab. 6. Toluidinblau.

Objekte	Toluidin- blau	Färbezeit Min.	Farbton der	
			Myelinfiguren und Sphärolithe	Plasma- reste
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 10.000	30	blaugrün	blau
<i>Netrium digitus</i>	1: 10.000	36 (6)	blaugrün (intensiv)	blau
<i>Netrium digitus</i>	1: 10.000	12—17	int. blaugrün (De- formation d. Ent- mischungsfiguren)	
<i>Closterium lunula</i>	1: 10.000		blaugrün	hellviolett
<i>Xanthidium armatum</i>	1: 10.000		int. blaugrün	
<i>Hyalotheca dissiliens</i> var. <i>hians</i>	1: 10.000		dunkel blaugrün	
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 10.000	30	leicht blaugrün	
<i>Micrasterias fimbriata</i>	1: 10.000	30	leicht blaugrün	
<i>Spirogyra</i> sp.	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	dunkel blaugrün	hellblau
<i>Micrasterias rotata</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	blaugrün	
<i>Micrasterias denticulata</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	dunkelgrün	himmelblau
<i>Closterium lunula</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	blaugrün	violett
<i>Closterium Libellula</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	blaugrün	
<i>Tetmemorus granulatus</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	leicht blaugrün	
<i>Xanthidium armatum</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	blaugrün	
<i>Desmidiium Swartzii</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	türkisblau	
<i>Hyalotheca dissiliens</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	30	dunkelblau	
<i>Netrium digitus</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)	sofort	blaugrün	türkisblau
<i>Eremosphaera vir.</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)		geringe Farbaufnahme	
<i>Pinnularia nobilis</i>	1: 1000 (gel. in Aqua dest.)		türkisblau	

2. Zusatz von Alkohol

Bei Behandlung der Entmischungsformen mit 96%igem reinem Alkohol konnte in kürzester Zeit eine vollständige Lösung derselben beobachtet werden. So war z. B. an Zellen von *Closterium lunula* 2 Minuten nach Durchsaugen des Alkohols durch das mikroskopische Präparat eine Deformation der Sphärolithe, Ausdehnung derselben sowie Nachlassen der Oberflächenspannung festzustellen. Gleichzeitig trat eine netzig-lamellare Struktur innerhalb der Sphärolithe auf, die durch Auseinanderweichen der Lamellen in eine wabige überging. 7 Minuten nach Versuchsbeginn trat plötzlich das Zusammenfließen der intensiv grünen, netzig „strukturierten“ Gebilde ein, die zwischen den Lamellen befindlichen bläschenartigen Hohlräume begannen zu platzen, bis schließlich die vollständige Auflösung der Entmischungsformen erreicht war. Während ihres Zusammenschrumpfens verteilte sich das Chlorophyll als diffus hellgrüne Masse regellos fast auf den ganzen Innenraum der Zelle.

3. Zusatz von Jod

Bei Behandlung der lipidentmischten Chloroplasten mit Jodkali färbten sich anfänglich die Zusammenballungen der Stärkeschollen intensiv violett. 30 Minuten nach Zusatz trat eine Entfärbung der Stärke ein, wobei sich die Sphärolithe gleichzeitig bräunlich anzufärben begannen.

An Sphärolithen von *Micrasterias denticulata* wurde innerhalb derselben die Trennung einer braunen Phase, welche an der Peripherie der Entmischungsformen sichtbar wurde, von einer grünen — also das Chlorophyll enthaltenden — beobachtet.

Nach Romieu (1927) geben Lezithine mit Jodjodkali eine Braunfärbung, die sogenannte „réaction iodophile“ (réaction brun acajou de la lécithine). Dieselbe zeigen sowohl reine als auch mit anderen Lipiden vermischte Lezithine.

Rückblick

1. Bei Zusatz von 2%igem Na-Oleinat war in den untersuchten Algenzellen eine Chloroplastenentmischung festzustellen, bei welcher sich im Endstadium grün gefärbte Sphärolithe ausbildeten, die sich zwischen gekreuzten Nikols als Sphärokristalle erwiesen. Der Beginn der Entmischung gleicht der Myelinfigurenbildung, welche bei Quellung von Lezithin entsteht.

Die Lipidentmischung der Algen-Chloroplasten zeigte bei sämtlichen untersuchten Objekten dieselben Stadien, nämlich 1. wabiges Erstarren des Plasmas, 2. Vergrößerung der Plastidenfeinstruktur, 3. Aufquellung der Chloroplasten. (Doch bildeten hier die Desmidiaceen eine Ausnahme, welche Plastidenkontraktionen und je nach Spezies geringere oder heftigere Bewegung der Chloroplasten in die andere Zellhälfte und zurück zeigen.) 4. Hervorwachsen der ersten Myelinschleifen aus der Plastidenoberfläche unter gleichzeitiger fortschreitender Entmischung in flüssige Sphärokristalle und körnige Plasma- und Plastidenreste.

Daß die Entmischungsformen aus den Plastiden und nicht etwa aus Plasma oder Zellsaft austreten, kann durch laufende Beobachtung ihrer Entstehung festgestellt werden. Auch bilden sich bei Austritt des Zellinhaltes aus der Chloroplastensubstanz große Myelinfiguren und Sphärolithe, welche intensiv grün gefärbt sind, aus dem Plasma zarte, dünne, in Bewegung befindliche, farblose Myelinformen.

2. Die untersuchten Objekte sind: als Vertreter der *Zygnemataceen* *Zygnema*, *Spirogyra* und *Mougeotia*, bei denen die maximale Ausbildung der Entmischungsformen gekennzeichnet ist durch das Auftreten kugeliger Sphärolithe und Zusammenballungen körniger Restbestände des Zellinhaltes. Im Unterschied zu fast allen übrigen untersuchten Pflanzenarten treten bei *Netrium digitus*, einer *Mesotaeniacee*, im Endstadium der Lipidentmischung nie Sphärolithkugeln auf, vielmehr bilden sich schlauch- und bandförmige Gebilde, welche jedoch bei Betrachtung zwischen gekreuzten Nikols (auch schon im Orthoskop) zu kleinen Sphärokristallen zerfallen. d. h. doppelbrechend sind und das Auslöschungskreuz zeigen. Unter den *Desmidiaceen* sind für die Erreichung des Endpunktes der Entmischung bei der Gattung *Closterium* (*Cl. lunula*, *didymotocum*, *libellula*, *ulna*, *rostratum* und *striolatum*) große ellipsoidische Sphärolithbildungen charakteristisch, welche im Orthoskop ihre Zusammensetzung aus mehreren Sphärokristallen erkennen lassen. *Tetmemorus* zeigte im wesentlichen gleiche Erscheinungen. Aus den Chloroplasten von *Euastrum* und *Micrasterias*-Arten (*M. rotata*, *denticulata*, *truncata*, *papillifera*, *apiculata* var. *brachyptera*) bildeten sich vorwiegend kugelige Entmischungsformen oder zusammengesetzte Gebilde, die meist körnig-lamellar geschichtet erschienen. Weiters ließen *Desmidium*, *Hyalotheca*, *Gymnozyga* und *Xanthidium* sehr schön die Entmischung ihrer Chloroplasten zu Sphärokristallen erkennen.

Als Vertreter der *Chlorophyceen* wurden *Eremosphaera viridis*, *Oocystis solitaria*, *Ulothrix* untersucht. Große Unterschiede zu den übrigen Gattungen zeigte *Cladophora glomerata*, welche eine diffuse Lösung des Chlorophylls in den aufgequollenen Zellwandschichten beobachten ließ. In der äußersten enorm aufgequollenen Membranschicht trat die Bildung von Myelinfiguren auf. Letztere erwiesen sich zwischen gekreuzten Nikols ebenfalls als Sphärokristalle.

Die Entmischung von *Diatomeen*-Plastiden gelang ebenfalls mittels 2%igem Na-Oleinat. So bei *Anomoeoneis sphaerophora*, *Gyrosigma acuminatum*, *Pinnularia nobilis*, *Melosira varians*. Eine Ausnahme bildete *Nitzschia* (*N. linearis*, *sigmoidea*), deren Endstadium gekennzeichnet war durch das Auftreten flächiger, bizarr geformter Gebilde, wobei die Zusammensetzung aus zahlreichen kugeligen Sphärokristallen im Orthoskop erkennbar war. Als Vertreter der höheren Pflanzen sind *Selaginella* und *Aspidistra elatior* zu nennen.

Es konnte also festgestellt werden, daß die durch Zusatz von Na-Oleinat entstehenden Entmischungsformen sowohl hinsichtlich ihrer Gestalt als auch ihrer zeitlichen Entstehung nach gattungsspezifische Unterschiede aufweisen.

3. Bei leichter Schädigung der Zellen tritt eine Beschleunigung vor allem der Anfangsstadien der Lipidentmischung ein, bei stärkerer Schädigung eine Verzögerung. An getöteten Chloroplasten ist die Entmischung nicht mehr zu erreichen, da anscheinend bereits eine Zersetzung der am Aufbau der Plastiden beteiligten Stoffe eingetreten ist.

4. Bei Zugabe von Wasser entsteht durch Quellung eine netzig-lamellare Struktur der Sphärolithe.

5. Nach Beobachtungen Menkes (1933) an *Polygonatum officinale* entstehen die Myelinschläuche lokal aus den Grana. Falls dies für sämtliche höhere Pflanzen zutrifft, wäre hervorzuheben, daß sich die untersuchten Algen hier wesentlich unterscheiden. Wie die Versuche an Desmidiaceen zeigten, entstehen die Myelinfiguren und Sphärolithe aus dem gesamten Chloroplasten, wobei die körnig-lamellare Plastidenstruktur innerhalb derselben noch einige Zeit erhalten bleibt.

6. Die Untersuchungen der Sphärolithe mit verschiedenen Farbstoffen ergaben: eine intensiv weinrote Diffusfärbung mit Rhodamin B, Blaugrün-Färbung mit Nilblausulfat, Speicherung von Neutralrot mit gelbrotem Farbtön und Aufnahme von Brillantcresylblau und Toluidinblau im Farbtön der ionisierten Form derselben. Auffallend war die Übereinstimmung der Färbung lipidentmischter Chromatophoren und aus Pflanzenleuzithin entstandener Myelinfiguren und Sphärolithe.

Diese Ergebnisse stimmen mit der in der Literatur vorhandenen Ansicht, daß es sich bei den Chloroplastenlipiden nicht um Neutralfette, sondern um polare Lipide handelt, überein.

7. Durch Zusatz von Alkohol konnte eine vollständige Lösung der Sphärolithe erreicht werden. Jodjodkali färbte dieselben braun. Auch diese Ergebnisse stehen mit der Annahme der Anwesenheit von Phosphatiden in den Chloroplasten in Einklang.

Literatur

- Ambronn, H., und A. Frey, 1926: Das Polarisationsmikroskop. Leipzig.
- Conn, H. J., 1953: Biological Stains. Geneve, N. Y., U. S. A.
- Czaja, A. Th., 1933: Untersuchungen über metachromatische Färbung von Pflanzengewebe. II. Basische Farbstoffe. *Planta* 21, 531.
- Dangeard, P., 1944: Observations sur la structure des chloroplastes. *C. r. Acad. Sci. Paris* 219, 626.
- Drawert, H., 1939: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. I. Versuche mit Rhodaminen. *Planta* 29, 376.
- 1940: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die pflanzliche Zelle. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. *Flora* 134, 1940.
- Eibl, K., 1940: Lipophanese der Plastiden von *Spirogyra* durch K-Oleat und andere Seifen. *Protoplasma* 34, 343.
- Fauré-Fremiet, 1929: Caractères physico-chimiques des Choanoleucocytes. *Protoplasma* 6.
- Frey-Wyssling, A., 1937: Der Aufbau der Chlorophyllkörner. *Protoplasma* 29, 279.
- 1949: Morphological Aspects of the Lipo-Proteins in Chloroplasts. *Disc. Faraday Soc.* No. 6, p. 130, Aberdeen.

- Frey-Wyssling, 1955: Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. Protoplasmatologia, Bd. II, A 2.
- und E. Steinmann, 1948: Die Schichtendoppelbrechung großer Chloroplasten. Biochim. biophys. Acta 2, 254.
- Gicklhorn, J., 1952: Vorübergehende Formveränderungen von Plastiden während der Plasmolyse. Protoplasma 15, 71.
- Haas, J., 1955: Physiologie der Zelle.
- Heitz, E., und R. Maly, 1953: Zur Frage der Herkunft der Grana. Z. Naturforsch. 8b, 243.
- Hygen, G., 1937: Über den Granabau der *Micrasterias*-Plastiden. Planta 27.
- Kaja, H., 1956: Untersuchungen über Struktur und Entwicklung der Leukoplasten in der Epidermis von *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Bak. Protoplasma 47.
- Kopetzky-Rechtperg, O., 1954: Beobachtungen an Protoplasma und Chloroplasten der Alge *Netrium digitus* (Ehrenberg) bei Kultur unter Lichtabschluß. Protoplasma 44, 322.
- Liebalddt, E., 1913: Über die Wirkung wäßriger Lösungen oberflächenaktiver Substanzen auf die Chlorophyllkörner. Z. Bot., 5. Jgg., 1913.
- Menke, W., 1935: Chloroplastenstudien I. Protoplasma 21, 279.
- 1934: Chloroplastenstudien II. Protoplasma 22, 56.
- und G. Menke, 1955: Wasser und Lipide in Chloroplasten. Weber-Festschrift.
- Molisch, H., 1915: Mikrochemie der Pflanze.
- 1891: Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
- Nageotte, 1931: Sur les variations du signe de la biréfringence dans les figures myéliniques et formations connexes. C. r. Acad. Paris 192, 584—586.
- Nestler, A., 1906: Myelin- und Eiweißkristalle in der Frucht von *Capsicum annuum* L. Sber. Kais. Akad. Wiss. Wien 1906; Bd. CXV, Abt. I.
- Romieu, 1927: Une réaction histochimique nouvelle des lécithines. C. r. Acad. Sci. Paris 184, 106.
- Schmidt, W. J., 1937: Neuere polarisationsoptische Arbeiten auf dem Gebiete der Biologie. Protoplasma 29, 500.
- 1951: zitiert aus J. Haas, 1955: Physiologie der Zelle.
- Senft, E., 1907: Über die Myelinformen bildende Substanz in *Ginkgo*-Samen. Pharm. Post, Wien.
- Stern, K., 1920: Untersuchungen über Fluoreszenz und Zustand des Chlorophylls in lebenden Zellen. Ber. dtsh. bot. Ges. 38, 1920.
- Strugger, S., 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze.
- 1950: Über den Bau der Proplastiden und Chloroplasten. Naturw. 37, 166.
- 1951: Die Strukturordnung im Chloroplasten. Ber. dtsh. bot. Ges. 64, 69.
- 1953: Über die Struktur der Proplastiden. Ber. dtsh. bot. Ges. 66, 439.
- 1954: Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'Herit. Protoplasma 43, 120.
- und E. Perner, 1956: Beobachtungen zur Frage der ontogenetischen Entwicklung des somatischen Chloroplasten. Protoplasma 46, 711.
- Weber, F., 1933: Myelinfiguren und Sphärolithe aus *Spirogyra*-Chloroplasten. Protoplasma 19, 455.
- 1936: Doppelbrechung der Chloroplasten von *Anthoceros*. Protoplasma 26, 312.
- Weier, T. E., 1938: The structure of the chloroplasts. Bot. Rev. 4, 497.

Viruskörper von *Rumex obtusifolius*

Von

Davor Miličić und Vlatko Bralić

Aus dem Botanischen Institut der Naturwissenschaftlichen Fakultät Zagreb

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Juni 1957)

Im vorigen Jahre haben wir im Botanischen Garten der Universität Zagreb unter den wildwachsenden Exemplaren von *Rumex obtusifolius* eine große Anzahl von Pflanzen beobachtet, deren Blattspreiten ungleichmäßig grün gefärbt waren. Da wir vermuteten, daß es sich um viruskranke Exemplare handelt, haben wir ihre Blattzellen auf die Anwesenheit der amorphen X-Körper bzw. der kristallinen Einschlüsse geprüft; diese Gebilde sind nämlich für mit Virus infizierte Pflanzen charakteristisch; das kommt besonders in Betracht für die X-Körper, für welche festgestellt wurde, daß sie nur in viruskranken Pflanzen vorkommen, so daß ihre Entdeckung in kranken Exemplaren ein zuverlässiger Nachweis ist, daß es sich um eine Virusinfektion handelt (vgl. B a w d e n 1950).

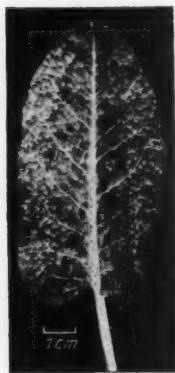


Abb. 1. *Rumex obtusifolius*. Junges Blatt mit chlorotischen Flecken.

Die mikroskopische Untersuchung hat gezeigt, daß sich in den Blattzellen dieser Pflanzen tatsächlich X-Körper befinden. Daß diese letzteren Gebilde kein normaler Bestandteil von *Rumex obtusifolius* sind, sondern nur in kranken Pflanzen vorkommen, wurde durch sorgfältige Untersuchung gesunder, aus Samen gezogener Pflanzen festgestellt. Die Anwesenheit der X-Körper hat es uns erleichtert, das Vorkommen dieser Virose auch in anderen Bezirken von Zagreb zu konstatieren.

An den Blättern kranker Pflanzen befanden sich lichtgrüne Flecken verschiedener Form. Häufig waren diese rundlich und ganz von normal grünen Blatteilen umgeben, manchmal aber auch ring- oder lappenförmig. In selteneren Fällen waren die lichtgrünen Bereiche miteinander verbunden und dann bedeckten sie oft den größeren Teil der Blattspreite. Die starke Fleckigkeit war meistens nur auf junge Blätter beschränkt (Abb. 1

und 2), in ausgewachsenen konnte sie seltener wahrgenommen werden. Die letzteren Blätter schienen uns häufig sogar ganz normal zu sein, aber nach ihrer Prüfung in durchfallendem Lichte konnte häufig festgestellt werden, daß ihr Chlorophyll nicht gleichmäßig in der Blattspreite verteilt war. Viele Pflanzen waren jedoch sehr schwach fleckig, so daß diese einer mikroskopischen Analyse unterzogen werden mußten, um feststellen zu können, ob sie gesund oder infiziert waren.

In den Zellen der kranken Pflanzen wurden nur amorphe X-Körper gefunden, die kristallinen Einschlüsse wurden niemals beobachtet (Abb. 3—5). Was die Lokalisation der Einschlüsse betrifft, fanden wir diese in der oberen und unteren Blattepidermis, und zwar am häufigsten in der letzteren unter den Blattnerven an den chlorotischen Stellen; in anderen Epidermistteilen fehlten die X-Körper häufig. Die Anzahl der Körper war auch von der Jahreszeit abhängig. So z. B. waren die X-Körper bei den im Glashaus gehaltenen Pflanzen gegen Ende des Herbstes 1956 und am Anfang des folgenden Winters seltener geworden, im Frühling 1957 traten sie aber wieder im reichlichen Maß, besonders in den jungen Blättern, auf.

Was die Größe der X-Körper betrifft, waren sie ungefähr so groß wie die Zellkerne und in gewöhnlichen Epidermiszellen der Nervenbereiche unterscheiden sie sich voneinander sehr wenig. Etwas größere Körper haben wir in den Papillen wahrgenommen, die sich in der Epidermis unter den Leitbündeln reichlich befinden. Mit Rücksicht auf die Struktur waren die Körper körnig und enthielten oft eine oder mehrere Vakuolen. Sie waren offenbar im Cytoplasma lokalisiert, was man in erster Linie auf Grund des häufig sehr engen Kontaktes mit dem Zellkern, dann aus ihrer Lage neben der Zellwand schließen konnte. Bei vertikaler Orientierung des Präparates änderten die Körper ihre Lage in der Zelle nicht in der Weise, wie dies für Zellkörper mit intravakuolärer Lokalisation bekannt ist (Milićić und Plavšić 1956). In den Schnitten, die mit Neutralrot vital gefärbt waren, blieben die X-Körper ungefärbt.

Diese Zelleinschlüsse konnten in mehreren Reagenzien fixiert werden, so z. B. in absolutem Alkohol, Sublimat-Alkohol und Bouin. Nach diesem Verfahren konnten sie mit Säurefuchsin und anderen Farbstoffen gefärbt werden. Dieselben Körper bekamen in Jodjodkali eine braune, in Pikrinsäure eine gelbe Färbung. Außerdem gaben sie folgende Eiweißreaktionen, aus denen wir auf ihre Eiweißnatur schließen konnten: die Xanthoproteinsäurereaktion, wobei sich die gelbe Färbung unter dem Einfluß von Ammoniak in Braungelb änderte, die Millonsche Reaktion, die erst nach Vor-



Abb. 2. *Rumex obtusifolius*. Nicht ganz ausgewachsenes Blatt mit Krankheitssymptomen.

behandlung mit verdünnter Stickstoffsäure (1:50) und Erwärmung deutlich ausfiel, und die Raspailsche Reaktion.

Die in absolutem Alkohol fixierten Körper waren gegen Trypsin und Pepsin sehr resistent, so daß auch nach zweitägiger Einwirkung der Enzyme keine größere Veränderung an den Körpern wahrgenommen werden konnte.

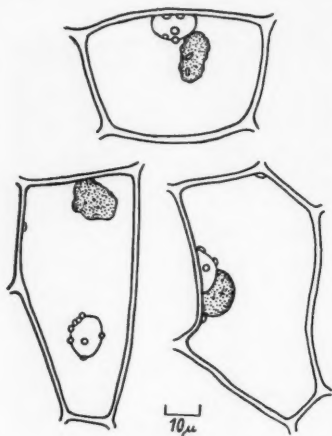


Abb. 3. Epidermiszellen des Blattes mit granulären X-Körpern.

Um feststellen zu können, ob sich die Körper als Ampholyte verhalten, waren sie nach Fixierung in Alkohol mit anodischem Farbstoff (Säurefuchsin) und mit kathodischen Farbstoffen (Neutralrot und Methylenblau) behandelt worden. Die Färbung wurde 15 Minuten lang in zwei pH-Bereichen ausgeführt, und zwar bei pH 7 und pH 2,0–2,2 mit Farbstoffen in Konzentration 1:2000 (Strugger 1949). Diese Versuche haben gezeigt, daß die Körper bei pH 7 im Säurefuchsin nicht färbbar sind, im stark sauren Bereiche dagegen den Farbstoff sehr intensiv speichern. Es war ein solches Resultat zu erwarten mit Rücksicht darauf, daß die Zeileinschlüsse Eiweißkörper sind und daß der IEP des Eiweißes gewöhnlich zwischen den angeführten pH-Werten liegt.

Gelegentlich der Färbung mit basischen Farbstoffen haben wir bei pH 7 die erwartete starke Färbung erlangt, bei pH 2–2,2 aber sind die Körper wider Erwarten ziemlich deutlich gefärbt geblieben. Was die Ursache

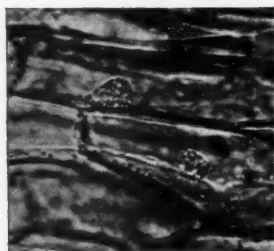


Abb. 4.

Abb. 4. Zwei X-Körper in lebenden Blattzellen.

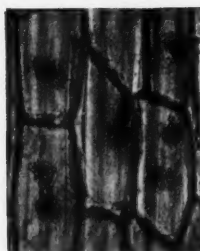


Abb. 5.

Abb. 5. Epidermiszellen der Blattunterseite. In den Zellen sind X-Körper und Zellkerne sichtbar. Fixiert in absolutem Alkohol und gefärbt mit Säurefuchsin.

für dieses Verhalten der Viruseinschlüsse ist, wurde nicht weiter untersucht.

Wie aus den angeführten Eigenschaften der X-Körper von *Rumex obtusifolius* hervorgeht, sind sie von analogen Körpern, die bei anderen Viren auftreten, im wesentlichen nicht verschieden. Was die Kenntnis dieser Einschlüsse betrifft, ist sie am besten bei der Tabakmosaikkrankheit,

von deren X-Körpern ausgezeichnete elektronenoptische Aufnahmen gemacht worden sind (Brandes 1956); diese zeigen, daß die X-Körper völlig mit Elementarstäbchen des Tabakmosaikvirus erfüllt sind. Es ist wahrscheinlich, daß sich auch in den X-Körpern der Kakteen (Weber, Kenda und Thaler 1952) Elementarteilchen von Virus ansammeln, weil aus den Körpern kristalline Eiweißspindeln entstehen. Diese letzteren Einschlüsse wurden unlängst von Amelunxen (1956, 1957) einer eingehenden Analyse unterzogen. Dabei wurde bewiesen, daß die Protein-spindeln aus fädigen Makromolekeln bestehen, welche Viruspartikeln darstellen. Es wäre interessant zu wissen, ob die X-Körper von *Rumex obtusifolius* auch Anhäufungen von Virusteilchen darstellen und aus welcher Ursache sie nicht kristallisieren können.

Wie schon erwähnt, haben wir aus Samen junge Pflanzen von *Rumex obtusifolius* gezogen, die weder äußere noch innere Krankheitssymptome aufwiesen. Eine größere Anzahl dieser Pflanzen wurde mechanisch durch Einreiben der Blätter mit Karborundpuder mit Virus infiziert. Die ersten Zeichen der Infektion wurden ungefähr 18 Tage nach der Verimpfung auf ganz jungen Blättern in Form einer starken Mosaikfleckigkeit beobachtet (Abb. 1), die älteren Blätter sind dabei unverändert geblieben. Annähernd gleichzeitig mit den ersten äußeren Symptomen wurden in den Pflanzen auch X-Körper gefunden. Die Infektionsversuche wurden im Frühling bei einer Temperatur von 20° C ausgeführt. Es ist uns gelungen, die Krankheitssymptome auch mit dem Preßsaft hervorzurufen, der mit Wasser auf die Konzentration 1:10 verdünnt war.

Die Mosaikkrankheiten von *Rumex obtusifolius* sind schon lange in verschiedenen Ländern bekannt. Zuerst hat Fernow (1925) in den USA, dann Grainger (1928) und Grainger und Cockerham (1950) in Großbritannien eine *Rumex*-Viruskrankheit untersucht. Außerdem sind Viroten von *Rumex*-Arten aus Neuseeland und in letzter Zeit aus Belgien bekannt (Lit. bei Köhler und Klinkowski 1954). In anderen Ländern Europas ist nach unserem Wissen keine Virose von *Rumex*-Arten bis jetzt bekannt.

Es scheint, daß die Zelleinschlüsse bei den Viroten von *Rumex* bisher noch nicht beobachtet worden sind. In den Werken von Bawden (1950) und Goldin (1954) sind nämlich die Viroten angeführt, die von der Entstehung von X-Körpern begleitet sind, aber unter diesen sind keine *Rumex*-Viroten zu finden.

Zusammenfassung

Im Sommer 1956 wurde in Zagreb eine große Anzahl von *Rumex obtusifolius*-Pflanzen beobachtet, die an einer Mosaikkrankheit litten. In den Blatt-Epidermiszellen dieser Pflanzen wurden amorphe X-Körper gefunden. Die Krankheit ist durch Verimpfung des infizierten Zellsaftes auf die gesunden Pflanzen übertragbar.

Für die Unterstützung bei der Arbeit und viele Ratschläge wollen wir auch an dieser Stelle Herrn Dr. Milan Panjan, Direktor des Instituts für Pflanzenschutz in Zagreb, unseren innigsten Dank aussprechen.

Literatur

- Amelunxen, F., 1956: Über die Strukturanalyse der Eiweißspindeln der *Cactaceae*. *Protoplasma* 45, 228.
- 1957: Die Virus-Eiweißspindeln der Kakteen. *Naturwiss.* 44, 239.
- Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass., USA.
- Brandes, J., 1956: Über das Aussehen und die Verteilung des Tabakmosaikvirus im Blattgewebe. *Phytopath. Z.* 26, 95.
- Chamberlain, E. E., and R. E. F. Matthews, 1949: A virus disease of docks in New Zealand. *N. Z. J. Sci. Techn.* 29, 286.
- Fernow, K. H., 1925: Interspecific transmission of mosaic diseases of plants. *Cornell Univ. agric. exper. stat., Mem.* 96.
- Goldin, M. I., 1954: Virusnie vključenija v rastitelnoj kletke. Moskva.
- Grainger J., 1928: An infectious chlorosis of the dock. *Proc. Leeds phil. soc. (sci. sect.)* 1, 360.
- and G. Cockerham, 1930: Some properties of the virus extract of dock mosaic. *Proc. Leeds phil. soc. (sci. sect.)* 2, 120.
- Köhler, E., und M. Klinkowski, 1954: Viruskrankheiten. In Sorauers Handb. d. Pflanzenkrankheiten. Berlin und Hamburg.
- Miličić, D., und B. Plavšić, 1956: Eiweißkristalloide in Kakteen-Virusträgern. *Protoplasma* 46, 547.
- Roland, G., 1952: Sur une mosaïque de *Rumex obtusifolius*. *Parasitica* 8, 54.
- Romeis, B., 1932: Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 15. Aufl. München und Berlin.
- Strugger, S., 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Tunmann, O., und L. Rosenthaler, 1951: Pflanzenmikrochemie. Berlin.
- Weber, F., G. Kenda und I. Thaler, 1952: Viruskörper in Kakteenzellen. *Protoplasma* 41, 277.

Cytologische Studien II

Die Feinstruktur des Cytoplasmas von *Paramecium*

Von

K. E. Wohlfarth-Bottermann

Aus dem Zentrallaboratorium für angewandte Übermikroskopie am Zoologischen
Institut der Universität Bonn

Mit 4 Tafeln

(Eingegangen am 28. Juni 1957)

Die Zellforschung der vergangenen 100 Jahre hat die Zelle als nicht weiter aufteilbaren Träger des Lebens bestätigt. Gemeinsames Merkmal aller Zellen ist ihr Aufbau aus dem Cytoplasma und dem Kern. Von den übrigen Zelleinschlüssen werden Mitochondrien und Plastiden nicht mehr zum eigentlichen Grundcytoplasma gezählt, da man sie für mehr oder weniger selbständige Zellorganellen hält. Das Grundcytoplasma wird am besten als der Bestandteil der Zelle definiert, in dem Zellkern, Mitochondrien, Plastiden und andere kleine Zellbestandteile eingeschlossen sind.

Für die Zellforschung ist die Struktur des Grundcytoplasmas von hohem Interesse, da hier durch dissimilatorische Prozesse die Lebensenergie gewonnen wird. Hier finden die grundlegenden Vorgänge des Wachstums statt, es ist der Ort der biologischen Strukturbildung. Seine Bedeutung erhellt sich auch daraus, daß es alle Struktursysteme der Zelle miteinander verbindet.

Die Fähigkeit des Cytoplasmas der meisten Zellen Bewegungen auszuführen, beruht nach unserem heutigen Wissen mittelbar oder unmittelbar auf laufenden Sol \rightleftharpoons Gel Umwandlungen.

Biochemische Untersuchungen haben in den letzten Jahrzehnten Erkenntnisse geliefert, hinter denen die morphologische Analyse zurückgeblieben ist. Abgesehen von der Grundzusammensetzung des Cytoplasmas aus Eiweißen, Kohlenhydraten, Lipoiden, Salzen und Wasser ist heute unbestritten, daß etwa ein Drittel des Gesamtbestandes der Ribonucleinsäuren der Zelle sowie alle Fermente des Glukose-Abbaues in der sogenannten undifferenzierten lebenden Substanz lokalisiert sind. Zusammenfassende Darstellungen findet man bei Ries-Gersch (1953), Frey-Wyssling (1955) sowie Haas (1955).

Die Analyse der Feinstruktur des Cytoplasmas ist zu allen Epochen der Zellforschung angestrebt worden und hat sich als ungemein schwierig erwiesen. Die bislang bekanntgewordenen Strukturtheorien sind in ihrer Verschiedenheit geradezu geeignet, die einzelnen zeitlichen Abschnitte der Zellforschung zu kennzeichnen.

Das Aufkommen der Fixierungs- und Färbetechniken gegen Ende des vergangenen Jahrhunderts brachte erstmals den Gedanken an eine reticuläre (Heitzmann, Frohmann, Leydig), fibrilläre (Flemming, v. Beneden, Boveri, Heidenhain), granuläre (Altmann) oder auch alveoläre (Bütschli) Grundstruktur lichtmikroskopischer Größenordnung. Um die Jahrhundertwende wurde aber bereits erkannt, daß die nach Fixation lichtmikroskopisch sichtbar werdenden Strukturen des Grundcytoplasmas auch an reinen Eiweißen erzeugt werden konnten, wenn diese der Einwirkung entsprechender Fixierungsmittel unterworfen wurden.

Aus dieser Erkenntnis der Unsicherheit und Subjektivität bei der Interpretation fixierter Präparate traten Anfang des Jahrhunderts mehr die Gesichtspunkte der sich entwickelnden Kolloidchemie in den Vordergrund. Lichtoptische und physiko-chemische Untersuchungen führten zu der Auffassung des Cytoplasmas als einer im Solzustand befindlichen kolloidalen Lösung von Eiweißen und Wasser (Rhumbler, Heilbrunn, Spek, Lepeschkin). Obwohl das Cytoplasma mit seiner Quellbarkeit und Schrumpfbarkeit und vor allem mit seiner Fähigkeit, allmähliche Übergänge vom flüssigen zum festen Zustand zu bilden, typische Eigenschaften von Kolloiden zeigt, so hat doch die Vorstellung vom Cytoplasma als eines wasserreichen Gemenges von Eiweißen, Kohlenhydraten und Salzen zahlreiche Leistungen der Cytoplasten unerklärt gelassen. Zweifellos ist es aber das Verdienst der kolloidchemischen Betrachtungsweise, den Glauben an eine allgemeinverbreitete Grundstruktur erschüttert zu haben. Das Interesse konzentrierte sich nun zwangsläufig auf die sublichtmikroskopischen Bausteine des Cytoplasmas. Die modernen Strukturtheorien sind bestimmt worden durch die fortschreitenden Erkenntnisse der makromolekularen Chemie (amikroskopischer Strukturbereich) und das Aufkommen der Elektronenmikroskopie (sublichtmikroskopischer Strukturbereich).

Zum sublichtmikroskopischen Bereich gehören die modernen Strukturtheorien von Monné (1948, 1952), Lehmann (1947–1956) und Bretschneider (1952), während die Haftpunkttheorie Frey-Wysslings in ihrer ursprünglichen Fassung im amikroskopischen Bereich operiert (vgl. Wohlfarth-Bottermann 1954).

Zur Untersuchung des Zusammenhanges von Struktur und Dynamik des Cytoplasmas erscheint die *Paramecium*-Zelle besonders geeignet, und zwar aus verschiedenen Gründen: Die Erfahrungen der verfeinerten Mikrotechniken haben gezeigt, daß Einzelzellen außerordentlich günstige Fixationsbedingungen bieten, die die Erzielung einer besonders guten Struktur-erhaltung erwarten lassen. Weiterhin ist die *Paramecium*-Zelle in großem Umfange experimentellen Beeinflussungen zugänglich, deren Wirkung auf das Cytoplasma also gut geprüft werden kann. Trotz zahlreicher elektronenmikroskopischer Arbeiten zur sublichtmikroskopischen Struktur des

Cytoplasmas, insbesondere der Säugerzelle, fehlt bislang eine eingehende Feinstrukturanalyse des Cytoplasmas von *Paramecium*. Die hier vorzulegenden Ergebnisse betreffen zunächst die normale Struktur des Cytoplasmas. Die Reaktionen des Cytoplasmas auf Einwirkung ionisierender Strahlen, quellender und entquellender Agenzien usw. werden Gegenstand einer folgenden Studie sein und bezwecken eine Analyse der mit der Sol = Gel-Dynamik verbundenen Strukturveränderungen. Für das Verständnis dieser Ergebnisse ist die Kenntnis der hier zu beschreibenden Normalstruktur wichtige Voraussetzung.

Material und Technik

Klone von *P. caudatum* und *P. aurelia* wurden in Heu- bzw. Strohdokkt bei Zimmertemperatur kultiviert. Die vorgelegten Bilder stellen eine Auswahl aus 30–40 verschiedenen Einbettungen dar, das heißt, es sind sehr verschiedene Kulturstadien im Laufe von etwa 1½ Jahren erfaßt worden.

Fixation der Zellen

1. 1%ige Osmiumtetroxydlösungen, gepuffert mit dem Veronalacetatpuffer nach Michaelis, isotonisch. Geprüfte pH-Werte der Fixierungslösung: pH-Bereich von 1–9, Abtastung in getrennten Versuchsreihen, der jeweilige Abstand der einzelnen pH-Werte betrug etwa 0,5, die Meßgenauigkeit der pH-Bestimmung 0,01 pH.
2. 10%ige neutralisierte Formalinlösung, gepuffert mit dem Veronalacetatpuffer nach Michaelis auf pH 7,15.
3. Fixationsgemisch von 1% Osmiumtetroxyd und 1,1% Kaliumbichromat, pH 6,5–7,2 (Dalton, vgl. Wohlfarth-Bottermann 1957 b).
4. Fixationsgemisch nach Regaud (pH 5,11).
5. Fixationsgemisch nach Maximow (pH 4,20).
6. Fixationsgemisch nach Champy (pH 1,70).

Die Fixationslösung wurde jeweils so eingestellt, daß beim Mischen eines Teils Kulturflüssigkeit + Zellen und eines Teils Fixierlösung die richtige Konzentration des Fixierers erreicht wurde. Fixationsdauer: 1–3 Stunden bei 20°C. Anschließend Entfernung des überschüssigen Fixationsgemisches durch 1–3stündigen Aufenthalt der Zellen in Tyrodelösung.

Kontrastierung der Zellen

Ein Teil der Präparate wurde auf der Entwässerungsstufe des 70%igen Alkohols einer Kontrastierung durch Anlagerung von Schwermetallionen unterworfen.

1. 1% Phosphorwolframsäure in 70%igem Alkohol (Wohlfarth-Bottermann 1957 c).
2. 1% Thalliumnitrat in 70%igem Alkohol (Wohlfarth-Bottermann 1957 c).
3. 1%ige Phosphorwolframsäure und 0,5% Uranylacetat in 70%igem Alkohol (Wohlfarth-Bottermann 1957 b).

Entwässerung und Einbettung der Zellen

Stufenentwässerung: 70-, 90-, 96-, 100%iger Alkohol. Monomeres Methylmetacrylat + Butylmetacrylat in verschiedenem Mischungsverhältnis (1:4—1:9) unter Zusatz von 0,2—2% Benzoylperoxyd. Polymerisation bei 40° C für 48 Stunden.

Dünnschnitte

Die Herstellung der Dünnschnitte erfolgte auf Ultramikrotomen nach Sjöstrand (LKB), Fernandez-Moran (Leitz) oder auf einem selbstgebauten Laborgerät, das ein modifiziertes Mikrotom nach Sitte (Reichert) darstellt.

Elektronenmikroskopische Untersuchung

Siemens-Elektronenmikroskop Typ UM 100 d bei 80 kV und einer Aperturblende von 30 μ . Aufnahmen auf 6,5 \times 9 cm Agfa-AGP-Filme.

Die Struktur des *Paramecium*-Cytoplasmas

Um zunächst den für die Strukturhaltung bei *Paramecium* optimalen pH-Wert 1%iger isotonischer Osmiumtetroxydlösung (Veronalacetatpuffer nach Michaelis) bei der Fixierung festzustellen, wurde der pH-Bereich von 1—9 in getrennten Versuchsreihen abgetastet. Der jeweilige Abstand der einzelnen pH-Werte betrug etwa 0,5, die Meßgenauigkeit der pH-Bestimmung 0,01 pH.

Der deformierende Einfluß saurer Fixierungslösungen auf das Cytoplasma trat hierbei klar zutage. Bei einem pH-Wert von 1,60 ist das Cytoplasma zwischen Pellicula und Macronucleus nur noch als vereinzelte Koagulate zu erkennen. Es ergeben sich ähnliche Bilder wie in Tafel 1 (oben), d. h. die Verwendung saurer Osmiumtetroxydlösungen entspricht in etwa den Ergebnissen einer Maximow-Fixierung.

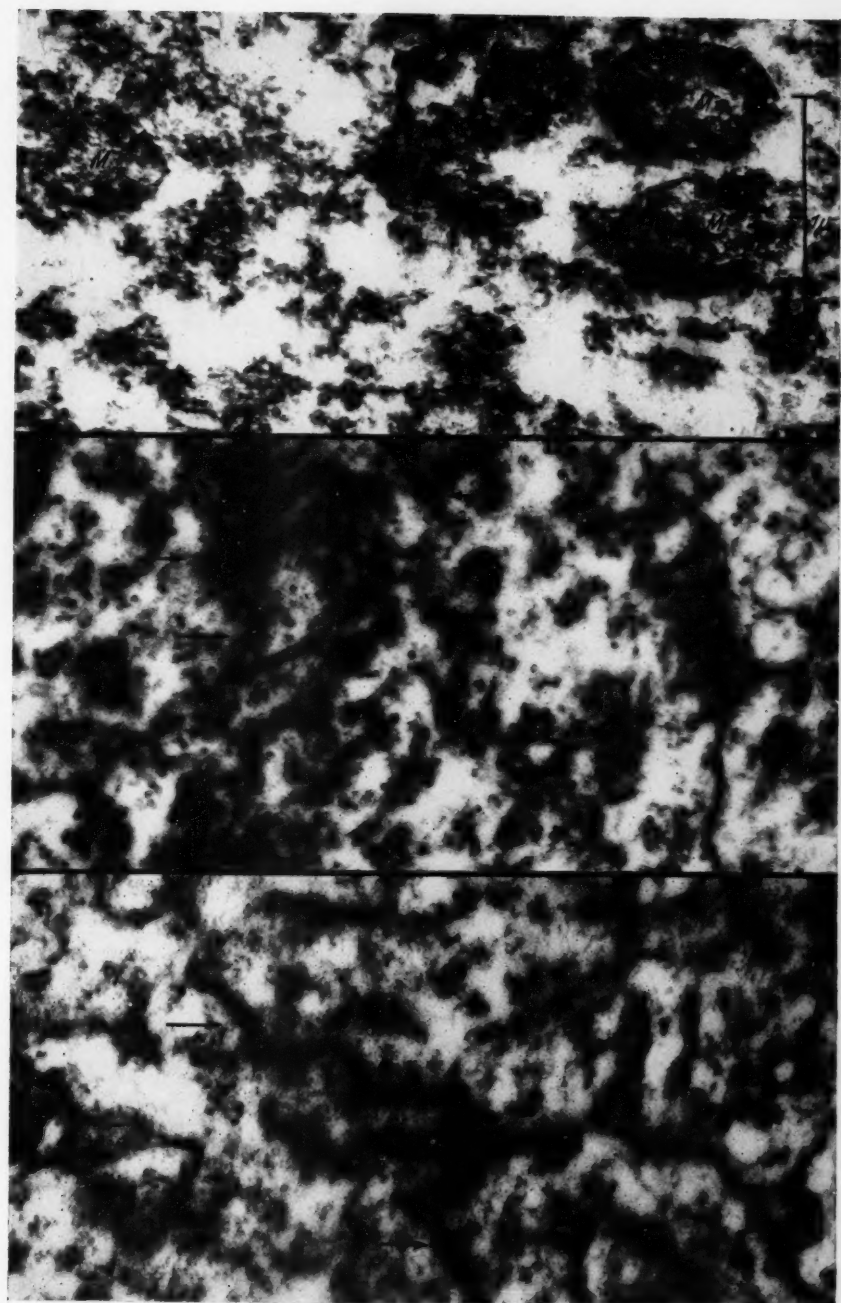
Im pH-Bereich von 6,5—7,2 ist die Strukturhaltung des Cytoplasmas der Mitochondrien und des Makronucleus ungleich besser, was an der allgemeinen Geschlossenheit der Strukturen und an dem Sichtbarwerden zahlreicher Feinstrukturkomponenten erkennbar ist. Der pH-Bereich von

Tafel 1

Oben: Cytoplasma *P. caudatum* nach Fixierung mit dem Gemisch nach Maximow (pH 4,20). Kontrastierung: 1% Phosphorwolframsäure in 70%igem Alkohol. Rechts und links oben im Bild Mitochondrien (M), deren Feinstruktur (Tubuli mitochondriales) weitgehend zerstört ist. Grobe Koagulationsstrukturen im Cytoplasma beweisen im Zusammenhang mit größeren Schrumpfungslücken die artefizielle Wirkung der Fixation. Elektronenoptisch 11.500 : 1. Endvergrößerung 59.000 : 1.

Mitte: Fixierung: 1% Osmiumtetroxyd (pH 6,51); Veronalacetatpuffer. Ohne gesonderte Kontrastierung. Unregelmäßig angeordnete Membranpaare (\uparrow) geringer Flächenausdehnung vorherrschend, vesiculäre und granuläre Komponente in geringerem Umfange beteiligt. E. O. 11.500 : 1. E. V. 59.000 : 1.

Unten: Fixierung: 1% Osmiumtetroxyd (pH 7,18); Veronalacetatpuffer. Kontrastierung: 1% Phosphorwolframsäure in 70%igem Alkohol. Strukturbildung mit Membranpaaren (\uparrow) größerer Flächenausdehnung sowie der granulären Komponente. Weitgehendes Fehlen der vesiculären Strukturelemente. E. O. 11.500 : 1. E. V. 59.000 : 1.



6,5–7,2 dürfte vorerst den für *Paramecium caudatum* bei der Fixierung optimalen pH-Bereich darstellen. Dieser Bereich ist identisch mit dem Bereich des isoelektrischen Punktes des Cytoplasmas von *Paramecium* (pH 6,6–7,0, vgl. Small und Wiercinski 1955).

Um den Einwand einer homogenisierenden Wirkung der Osmiumtetroxydlösung bei der Fixierung zu entkräften, wurden Vergleichsuntersuchungen mit 10%iger Formalinlösung, mit den Gemischen nach Regaud, Maximow und Champy sowie mit einem Fixierungsgemisch von 1% Osmiumtetroxyd und 1% Kaliumbichromat durchgeführt.

Tafel 1 (oben) zeigt das Ergebnis einer Maximow-Fixierung, Tafel 3 die Auswirkung eines Fixierungsgemisches von Osmiumtetroxyd und Kaliumbichromat.

Die Gemische nach Regaud, Champy und Maximow erzeugen im Vergleich zu den anderen geprüften Fixierungsarten eine vergrößerte Struktur des Cytoplasmas und Deformationen der Feinstrukturen der Mitochondrien, die als artefizielle Veränderungen angesehen werden müssen. Das formalinfixierte Cytoplasma dagegen ergibt nach geeigneter Kontrastierung im wesentlichen die gleichen Strukturelemente wie nach Osmiumfixation, jedoch ist die Ausdehnung der cytoplasmatischen Doppelmembranen und Granula sowie des Durchmessers der Mitochondrien-Hüllmembranen meist um etwa 20–30 Å geringer als nach vergleichbarer Osmiumtetroxyd-fixierung (vgl. Wohlfarth-Bottermann 1956).

In der *Paramecium*-Zelle scheint das Cytoplasma im wesentlichen aus folgenden Komponenten zu bestehen:

1. Doppelmembranen,
2. vesiculäre Elemente,
3. granuläre Elemente.

Die Vielfalt der möglichen Strukturen kann entweder durch Variation dieser Grundelemente, durch ihre verschieden starke Beteiligung an der Zusammensetzung des Cytoplasmas oder ihre Kombination erklärt werden.

1. Doppelmembranen

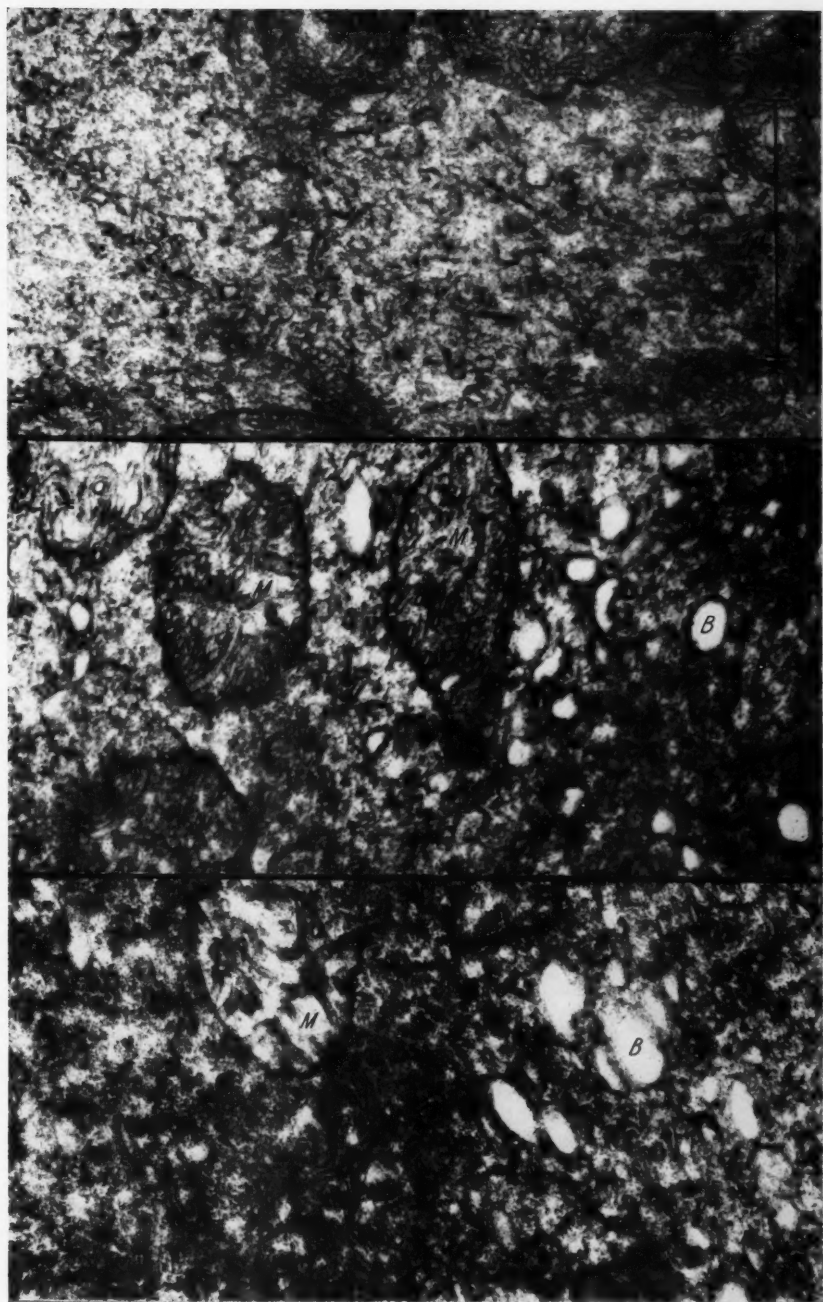
Die in Tafel 1 (Mitte und unten) und Tafel 3 (oben) erkennbaren jeweils paarig angeordneten kontrastreichen Linien müssen als Querschnitte von Doppelmembranen gedeutet werden. Der Nachweis ihres Membrandarakters läßt sich durch die Analyse von Serienschnitten führen. Würde es sich lediglich um paarweise gegenüberliegende fadenförmige Strukturen handeln, so würde sich ihre Tiefenausdehnung in zahlreichen Serienschnitten (vgl. Tafel 4) nicht verfolgen lassen.

Tafel 2

Oben: Fixierung: 1% Osmiumtetroxyd (pH 7,15); Veronalacetatpuffer. Kontrastierung: 1% Phosphorwolframsäure in 70%igem Alkohol. Dichtes Cytoplasma, aufgebaut aus granulären, membranösen und kleinen vesiculären Elementen.

E. O. 11.500 : 1. E. V. 39.500 : 1.

Mitte und unten: Fixierung: 1% Osmiumtetroxyd, 1% Kaliumbichromat (pH 6,70). Kontrastierung: 1% Phosphorwolframsäure, 0,5% Uranylacetat in 70%igem Alkohol. Mitochondrien (M) und Cytoplasma mit Bläschen (B). E. O. 11.400 : 1. E. V. 39.500 : 1.



Die Ausbildung dieser Doppelmembranen ist recht unterschiedlich. Während in Tafel 1 (Mitte und unten) einzelne Doppelmembranen anscheinend ungeordnet zu sehen sind, zeigt Tafel 3 (oben) regelmäßig angeordnete Schichtpakete dieser Komponenten mit Aneinanderlagerung von 5–10 Membranpaaren. Eine Zuordnung ihres Vorkommens zu besonderen physiologischen Zuständen der *Paramecium*-Zelle war bislang nicht möglich.

2. Vesiculäre Elemente

Die im Cytoplasma von *Paramecium* vorkommenden vesiculären Elemente (Tafel 4) variieren in Größe und Form beträchtlich und besitzen, wie aus der Analyse von Serienschritten hervorgeht, eine relativ große Tiefenausdehnung, so daß sie als polymorphe Schläuche angesehen werden können. Sie dürfen nicht mit Anschnitten (zumeist größerer) Blasen verwechselt werden (Tafel 2, Mitte und unten), die wahrscheinlich flüssige Entmischungsprodukte des Cytoplasmas enthalten. Nur selten findet man vesiculäre Elemente in Vielzahl auf engstem Raum nebeneinander liegend (Tafel 4, Pfeilmarkierung). In solchen Fällen zeigt die Auswertung von Serienschritten, daß es sich um schlauchartige Strukturen besonders großer Tiefenausdehnung handelt.

3. Granuläre Elemente

Die im Cytoplasma von *Paramecium* auffindbaren globulären Elemente besitzen einen Durchmesser von 100–200 Å und finden sich zumeist zwischen den bislang beschriebenen Strukturen verteilt, können jedoch auch ohne Doppelmembranen und vesiculäre Elemente große Teile des Cytoplasmas bilden. Sowohl in ihrer Größe als auch in ihrem generellen Vorkommen besitzen sie von den bislang beschriebenen Strukturen die größte Regelmäßigkeit, praktisch sind sie auf allen Bildern zu erkennen. Auf Tafel 3 (unten) besteht das Cytoplasma fast ausschließlich aus diesen Gebilden. Ihr mengenmäßiger Anteil kann jedoch großen Veränderungen unterliegen.

Deutung der Ergebnisse

Der Nachweis von Doppelmembranen, schlauchförmigen Elementen und Granula in wechselndem Mengenverhältnis als Bestandteile des Cytoplasmas von *Paramecium* erlaubt die Schlußfolgerung, daß der Grundaufbau des Cytoplasmas von *Paramecium* dem der Säugerzelle entspricht. Sedar und Porter (1955) kamen im Rahmen einer Untersuchung der Pellicularstrukturen von *Paramecium*, soweit in dieser Studie das Cyto-

Tafel 3

Oben: Fixierung: 1% Osmiumtetroxyd, 1% Kaliumbichromat (pH 6,70). Kontrastierung: 1% Phosphorwolframsäure in 70%igem Alkohol. Parallel nebeneinander angeordnete Membranpaare in verschiedener Ausprägungsform (†). E. O. 11.400 : 1.
E. V. 39.500 : 1.

Unten: Fixierung 1% Osmiumtetroxyd 1% Kaliumbichromat (pH 6,70). Kontrastierung: 1% Phosphorwolframsäure, 0,5% Uranylacetat in 70%igem Alkohol. Aufbau des Cytoplasmas vorwiegend aus der granulären Komponente. Doppelmembranen und vesiculäre Komponente kaum ausgebildet. E. O. 11.400 : 1.
E. V. 39.500 : 1.



plasma abgebildet wurde, zu dem Ergebnis, daß eine granuläre und eine vesiculäre Komponente nachweisbar sei. Soweit es die bisherigen Befunde über das Cytoplasma der pflanzlichen Zelle zu beurteilen erlauben, scheinen auch hier keine grundlegend anderen Verhältnisse vorzuliegen.

Der Aufbau des Cytoplasmas der Säugetierzelle ist in vergleichenden Untersuchungen vor allem von Palade und Porter (1952—1956) sowie Sjöstrand (1955, 1956) beschrieben worden. Palade (1956 a) deutet die schlauchartigen vesiculären Elemente des Cytoplasmas sowie auch die Membrankomponenten als zusammenhängendes, röhrenartiges System, das in verschiedenen Ausprägungsarten das Cytoplasma der gesamten Zelle durchzieht. Es wird als sogenanntes „endoplasmatisches Reticulum“ bezeichnet.

Als Hauptcharakteristika dieses Systems nennt Palade (1956 a):

1. Der Durchmesser von Querschnittsprofilen im Dünnschnitt schwankt zwischen 500 und 3000 Å.

2. Das System besteht aus einer schlauchförmigen dünnen, aber kontrastreichen Membran, die einen Raum umschließt, der elektronenoptisch vorerst leer erscheint.

3. Die mengenmäßige Beteiligung des endoplasmatischen Reticulums an der Gesamtmenge des Cytoplasmas ist je nach Zellart sehr verschieden, soll jedoch für eine bestimmte Zellart charakteristisch sein.

Palade (1956 a) hält auch die Doppelmembranstrukturen, die in Dünnschnittbildern (Sjöstrand 1955, 1956 a u. b) als paarig angeordnete Linien in Erscheinung treten, für eine besondere Differenzierungsform des „endoplasmatischen Reticulums“. In regelmäßiger Anordnung und in Kombination mit der granulären Komponente des Cytoplasmas bilden ähnliche Doppelmembranen besonders in sekretorisch aktiven Zellen das sogenannte „basophile Cytoplasma“, das insbesondere von Bernhard u. Mitarb. (1952, 1954) untersucht worden ist und von diesen Autoren als „Ergastoplasma“ bezeichnet wurde.

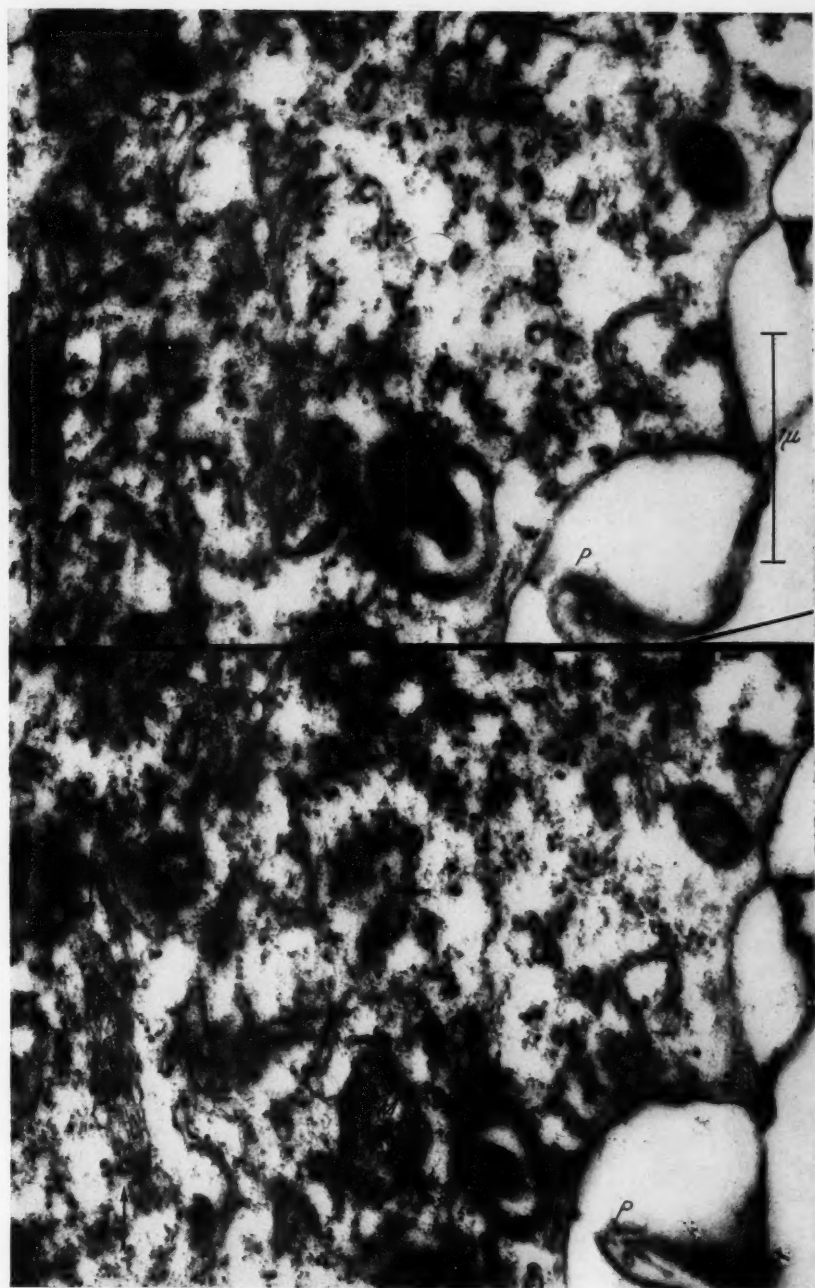
Aber auch die als Golgi-Apparat bezeichnete Plasma-Differenzierung, die sich im Elektronenmikroskop als eine komplexe Struktur von regelmäßig angeordneten Doppelmembranen und vesiculären Elementen erwiesen hat (Sjöstrand 1953—1956), wird von Palade (1956 a) für eine Differenzierungsform des endoplasmatischen Reticulums gehalten.

Die Untersuchungen des Arbeitskreises um Sjöstrand (1953—1956) zur sublichtmikroskopischen Struktur des Cytoplasmas stimmen in ihren

Tafel 4

Fixierung: 1% Osmiumtetroxydlösung (pH 6,11); Veronalacetat. Kontrastierung: 1% Thalliumnitrat in 70%igem Alkohol. Serienschritte. Cytoplasma, Mitochondrien (M) und Pellicula (P). Doppelmembranen, vesiculäre Elemente und granuläre Bestandteile des Cytoplasmas besonders deutlich. An vielen Stellen ist eine paarweise bzw. rosettenförmige Anordnung der Granula zu erkennen, die zu einer Deutung als Schrauben geführt hat. Links (↑) Querschnitte eng zusammenliegender Schläuche großer Tiefenausdehnung, die in ihrer Anordnung an den Golgi-Apparat erinnern.

E. O. 11.500 : 1. E. V. 33.500 : 1.



Befunden im wesentlichen mit der amerikanischen Schule überein, weichen allerdings in der Deutung und in nomenklatorischer Hinsicht ab.

Die wesentlichste Abweichung ist darin gegeben, daß die schwedische Schule vor einer zusammenfassenden Deutung von vesiculären Elementen und Doppelmembranen warnt und daher die einzelnen Membranelemente zunächst mit der neutralen Bezeichnung „ α -, β - und γ -Cytomembranen“ beschreibt (Sjöstrand 1955, 1956 a u. b). Hierdurch soll eine internationale Bezeichnung erreicht werden, ohne eine funktionelle Deutung durch Einführung neuer Termini vorwegzunehmen. Da wir über die funktionellen Zusammenhänge und die Dynamik dieser Strukturen in der Tat recht wenig wissen, erscheint dieser Vorschlag durchaus berechtigt. Andererseits kann nicht übersehen werden, daß die große räumliche Ausdehnung und der weitgehende Zusammenhang der Doppelmembranen und vesiculären Elemente durch die Arbeiten von Palade und Porter (1954 b) und Palade (1956) durch vergleichende Untersuchungen an Gewebekulturzellen in toto recht gut gesichert worden ist.

Unvereinbar sind die Ergebnisse zur Feinstruktur des Cytoplasmas von *Paramecium* mit den Auffassungen, die Lehmann und Mitarbeiter (1947–1956) insbesondere auf Grund von Untersuchungen an Amöben über die Feinstruktur des Hyaloplasmas vertreten (Biosomenhypothese). Wie in früheren Arbeiten (Lehmann 1950, 1952) vertritt dieser Autor auch weiterhin (Bairati und Lehmann 1954, Lehmann 1956) die These einer relativ groben Retikulärstruktur des Hyaloplasmas, in die „Mikrosomen“ bzw. „Biosomen“ (500–2000 Å) eingelagert sein sollen. Bilder zugunsten einer solchen Annahme erhält man ausschließlich nach Anwendung saurer Fixierer, weshalb Lehmann (1956) die Bilder osmiumfixierter Zellen für irreführend hält (angebliche „Lyse der Mikrosomen“). Der Verfasser (Wohlfarth-Bottermann 1954) hat in Modellversuchen an reinen Eiweißen die stark strukturvergrößernde Wirkung saurer Fixierer aufgezeigt. Es kam seinerzeit darauf an zu zeigen, daß die von Lehmann zur Stützung seiner Biosomentheorie (Lehmann 1950) beigebrachten Bilder sauer fixierten Cytoplasmas keine Beweiskraft für das Vorhandensein einer „Biosomen-Population“ in der Zelle besitzen, da saure Fixierer auf jeden Fall die Gefahr einer Strukturvergrößerung einschließen. Wenn Lehmann (1956) dagegen die weitaus feiner strukturierten Bilder osmiumfixierten Cytoplasmas verdächtigt, grobe Netzstrukturen von beinahe lichtmikroskopischen Abmessungen zu verdecken bzw. daraus hervorgegangen zu sein, so hat diese „Grobtextur“-Hypothese a priori aus folgenden Erwägungen wenig Wahrscheinlichkeit für sich: Man kann sich die komplizierten Stoffwechselvorgänge und morphogenetischen Prozesse zweifellos viel besser in einem reich strukturierten Cytoplasma ablaufend vorstellen als in einem derben Gerüst annähernd lichtmikroskopischer Größenordnung, das nur wenig reaktionsfähige Oberflächen bietet. Vollends deutlich wird die Berechtigung dieser Erwägung am Beispiel der Mitochondrien, die sich nach Osmiumtetroxyd- und Formalinfixation als feinstrukturierte Gebilde mit hoher innerer Differenzierung (Doppelmembranen oder Röhren) erwiesen haben (vgl. Tafel 2,

Mitte). Die biochemische Aktivität dieser Zellorganellen kann beim Vorhandensein einer großen inneren Oberfläche viel besser verstanden werden. Nach Anwendung saurer Fixierer (Tafel 1, oben) verschwinden die für *P. typischen* Tubuli mitochondriales unter Bildung grob strukturierter Koagulate. Erfahrungsgemäß reagiert das Cytoplasma auf die Einwirkung saurer Fixierer noch empfindlicher als die Mitochondrien.

Die an der Grenze der lichtmikroskopischen Auflösung liegenden hypothetischen „Biosomen“ ($0,03-0,5 \mu$) können wegen ihrer Größe nicht mit der granulären Komponente des Cytoplasmas identifiziert werden, deren Einheiten übereinstimmend aus Partikeln mit einem Durchmesser von $100-200 \text{ \AA}$ bestehen. Wenn Lehmann (1956) die u. a. von Palade (1955) beschriebene granuläre Komponente des Cytoplasmas (Durchmesser $100-200 \text{ \AA}$) als Hinweis für das Vorkommen einer „Mikrosomen-Population“ (Durchmesser $50-200 \text{ m}\mu$) zitiert, so bleibt unberücksichtigt, daß es sich hier jeweils um ganz verschiedene Größenordnungen handelt.

Wie bereits 1954 von Bernhard und Mitarbeitern und vom Verfasser (1954) erkannt, besteht die sogenannte „Mikrosomenfraktion“ homogenisierter Zellen, die nach differenzierter Zentrifugation des Zellbreies erhalten wird, aus einem Gemisch zerschlagener Cytoplasmastrukturen und stellt daher keineswegs eine einheitliche granuläre Komponente des Cytoplasmas dar. Es handelt sich lediglich um eine Ansammlung gleichgewichtiger Trümmer von Doppelmembranen, vesiculären und granulären Komponenten des Cytoplasmas in je nach Zellart verschiedener Zusammensetzung. Eine klare Bestätigung hierfür wurde in jüngster Zeit von Palade und Siekevitz (1956a und b) sowie Novikoff (1956) erbracht.

Nachdem die elektronenmikroskopische Analyse der Zelle bislang übereinstimmend gezeigt hat, daß die Einheiten des Cytoplasmas weit unterhalb des Auflösungsvermögens des Lichtmikroskops liegen, besteht ebenso wie für die Biosomenhypothese Lehmanns auch für die Chromidientheorie Monnés (1948) wenig Wahrscheinlichkeit. Das gleiche muß für die Leptonentheorie Bretschneiders (1952) gelten, obgleich letztere Theorie (im Gegensatz zu den Vorgenannten) Baueinheiten geringerer Größe (Leptonen, $80-200 \text{ \AA}$) annimmt. Für die Deutung der heute im Rahmen der Dünnschnitt-Technik erzielbaren Bilder haben sich diese Theorien bislang unfruchtbar bewiesen.

Ungeschmälert in ihrer Bedeutung für die Feinstrukturanalyse des Cytoplasmas bleibt vorerst allein die Haftpunkttheorie Frey-Wysslings (1955), wenngleich eine eindeutige Korrelation zu den bislang vorliegenden elektronenmikroskopischen Befunden noch nicht möglich ist.

Eine interessante Deutung der $100-200 \text{ \AA}$ großen granulären Komponente des Cytoplasmas ist in jüngster Zeit von Strügger (1956) für die Pflanzenzelle und von Weissenfels (1957) für die tierische Zelle erörtert worden. Diese Autoren sehen in den häufig paarweise bzw. rosettenförmig angeordneten Granula (siehe besonders Tafel 4) Anschnitte

schraubenförmig gestalteter Strukturelemente („Cytonemata“). Auch bei *Paramecium* (Tafel 4) läßt sich eine paarige bzw. rosettenförmige Anordnung der Granula häufig feststellen. Eine weitere Analyse der „granulären Komponente“ des Cytoplasmas erscheint daher von großer Bedeutung.

Die Zusammensetzung des Cytoplasmas von *Paramecium* aus Strukturelementen wie Doppelmembranen, mehr oder weniger ausgedehnten vesiculären Schläuchen sowie granulären Elementen entspricht dem Aufbau der bislang untersuchten Säuger- und Pflanzenzellen.

Während allerdings bei den im größeren Umfange vergleichend untersuchten Säugerzellen (vgl. die Arbeiten von Palade und Porter) die mengenmäßige Zusammensetzung dieser Strukturelemente bis zu einem gewissen Grade pro Zellart als konstant beschrieben wird, ist dies bei *Paramecium* nicht der Fall. Im Laufe von etwa 1½ Jahren zeigte sich bei der Auswertung von 30–40 Einbettungen verschiedener Kulturstadien eines Klonen eine außerordentliche Variabilität der möglichen quantitativen Zusammensetzung des Cytoplasmas aus den verschiedenen Komponenten. Die granuläre Strukturkomponente ist in allen Fällen im Cytoplasma nachweisbar. Sie kann unter Umständen das Cytoplasma von *Paramecium* fast ausschließlich aufbauen. Doppelmembranen und vesiculäre Elemente können also in der Beteiligung beim Aufbau des Cytoplasmas weitgehend zurücktreten, während die granuläre Komponente obligatorisch zu sein scheint. Sogar wenn das Cytoplasma vorwiegend aus Doppelmembranen und vesiculären Strukturen besteht, sind die 100–300-Å-Partikel, wenn auch in geringem Umfange, immer vorhanden.

Zusammenfassung

Die Feinstruktur des Cytoplasmas von *Paramecium caudatum* und *P. aurelia* wurde an Hand von Dünnschnitten elektronenmikroskopisch untersucht. Nach Anwendung verschiedener Fixierungen und neuer Kontrastierungsverfahren ergab sich ein Aufbau aus membranösen, vesiculären und granulären Elementen, woraus geschlossen werden kann, daß sich das Cytoplasma der Protozoen im wesentlichen aus den gleichen Strukturelementen zusammensetzt wie die Zellen höherer Tiere und die Pflanzenzelle. Die Bedeutung dieses Befundes für die bestehenden sublichtmikroskopischen Strukturtheorien des Cytoplasmas wird erörtert. Besonders bemerkenswert erscheint die Tatsache, daß die jeweilige mengenmäßige Zusammensetzung des Cytoplasmas aus den oben genannten Elementen außerordentlich starken Veränderungen unterliegen kann. Diese Erscheinung berechtigt zu der Hoffnung, daß hierdurch an einem experimentell günstigen Objekt wie *Paramecium* eine Korrelation von Feinstruktur und Dynamik des Cytoplasmas möglich sein wird.

Die Untersuchungen wurden durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht. Frau B. Koeppe-Lesche danke ich für wertvolle technische Assistenz.

Literatur

- Bairati, A., und F. E. Lehmann, 1951 a: Diversi costituenti della *Amoeba proteus* (Plasmalemma, ialoplasma, vacuoli) esaminati al microscopio elettronico. Publ. Staz. Zool. Napoli 23, 195.
- — 1951 b: Über die Feinstruktur des Hyaloplasmas von *Amoeba proteus*. Rev. Suisse Zool. 54, 443—449.
- — 1953: Structural and Chemical Properties of the Plasmalemma of *Amoeba proteus*. Exper. Cell Res. 5, 220—233.
- — 1954: Partial Disintegration of Cytoplasmic Structure of *Amoeba proteus* after Fixation with Osmium Tetroxide. Experientia 10, 173.
- Bernhard, W., A. Gautier et Ch. Rouiller, 1954: La Notion de « Microsomes » et le Problème de la Basophilie Cytoplasmique, Étude critique et expérimentale. Arch. Anat. microsc. (Fr.) 43, 236—275.
- F. Haguénau, A. Gautier et Ch. Oberling, 1952: La Structure submicroscopique des éléments basophiles cytoplasmiques dans le foie, le pancreas et les glandes salivaires. Z. Zellforsch. usw. 37, 281—300.
- Bretschneider, L. H., 1951: Die elektronenoptische Feinstruktur von organischen Kolloiden und dem Grundcytoplasma. Proc. K. Nederland. Akad. Wetenschap. Amsterdam 54, 89—101.
- 1952: The Fine Structure of Protoplasm. Survey Biol. Progress 2, 223.
- Frey-Wyssling, A., 1955: Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. Protoplasmatologia, Bd. II A 2, Wien.
- Haas, J., 1955: Physiologie der Zelle. Berlin.
- Hodge, A. J., E. M. Martin und R. K. Morton, 1957: The structure of some cytoplasmic components of plant cells in relation to the biochemical properties of isolated particles. J. Biophys. Biochem. Cytol. 3, 61—70.
- Lehmann, F. E., 1947: Über die plasmatische Organisation tierischer Eizellen und die Rolle vitaler Strukturelemente der Biosomen. Rev. Suisse Zool. 54, 246.
- 1950: Globuläre Partikel als submikroskopische Elemente des tierischen Cytoplasmas. Experientia 6, 382.
- 1952: Mikroskopische und submikroskopische Bauelemente der Zelle. Mikroskopische und chemische Organisation der Zelle. Berlin.
- 1954: Nukleinsäurehaltige Cytoplasmapartikel als Objekte cytochemischer und elektronenmikroskopischer Untersuchungen. 14. Jahresbericht d. Schweiz. Ges. f. Vererb. Forsch., S. S. G., Arch. Klaus-Stiftg., Zürich 29, 288—295.
- 1955: Die submikroskopische Organisation der Zelle. Verhandl. d. Ges. Deutscher Naturforsch. u. Ärzte. 98. Versammlung, Freiburg i. B., S. 48—54. Springer Verl. Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- 1956: Der Feinbau von Kern und Cytoplasma in seiner Beziehung zu generellen Zellfunktionen. Erg. med. Grundlagenforsch. 110—137. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart.
- and H. R. Wahli, 1955: Modellversuche an Kaseinaten über die äquivalente Fixation submikroskopischer Strukturen. Exper. Cell Res. Suppl. 3, 230—240.
- Monné, L., 1948: Functioning of the Cytoplasm. Adv. Encymol. 8, 1—69.
- and S. Härde, 1952: Changes in the protoplasmic properties occurring upon stimulation and inhibition of the cellular activities. Arkiv för Zoologi, Ser. 2, 3, 289—318.
- Novikoff, A. B., 1956: Preservation of the Fine Structure of isolated Liver Cell Particulates with Polyvinylpyrrolidone-Sucrose. J. Biophys. Biochem. 2, Suppl., 65—66.

- Palade, G. E., 1952: A Study of Fixation for Electron Microscopy. *J. exper. Med. (Am.)* 95, 285—298.
- 1955 a: A small Particulate Component of the Cytoplasm. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1, 59—68.
- 1955 b: Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple Dispositions in cells in situ. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1, 567—582.
- 1956 a: The endoplasmic reticulum. *J. Biophys. Biochem. Cytol., Suppl.* 2, 85—98.
- 1956 b: Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 417—422.
- 1956 c: Electron Microscopy of Mitochondria and other Cytoplasmic Structures. Repr. Henry Ford Hospital International Symposium, Enzymes: Units of Biological Structure and Function, Academic Press Inc., Publishers New York, 9, p. 185—215.
- and K. R. Porter, 1954 a: The Endoplasmic Reticulum. *Handbook Int. Conf. on Electron Microscopy*, London, 84.
- — 1954 b: Studies on the endoplasmic Reticulum. I. Its Identification in Cells in Situ. *J. exper. Med. (Am.)* 100, 641—656.
- and P. Siekevitz, 1955: Correlated structural and chemical analysis of microsomes. *Feder. Proc.* 14, 262.
- — 1956 a: Liver Microsomes, an integrated Morphological and Biochemical Study. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 171—200.
- — 1956 b: Pancreatic Microsomes, an integrated Morphological and Biochemical Study. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 671—690.
- Porter, K. R., 1948: The fine structure of the cytoplasm of cultured tissue Cells. *Anat. Rec. (Am.)* 100, 72.
- 1953 a: The fine structure of a submicroscopic basophilic Component of Cytoplasm. *J. exper. Med. (Am.)* 97, 727.
- 1953 b: Observations on a submicroscopic basophilic component of cytoplasm. *J. exper. Med. (Am.)* 97, 727—750.
- 1954: Electron Microscopy of Basophilic Components of Cytoplasm. *J. Histochem. a. Cytochem.* 2, 546—575.
- A. Claude and E. F. Fullam, 1945: A study of tissue culture cells by electron microscopy. *J. exper. Med. (Am.)* 81, 235—246.
- Rhodin, J., 1954: Correlation of ultrastructural Organization and Function in normal and experimentally changed proximal convoluted Tubule Cells of the Mouse Kidney. From the Department of Anatomy, Karolinska Institutet, Stockholm.
- Ries, E. und M. Gersch: 1953: *Biologie der Zelle*. Leipzig.
- Sedar, A. W., and K. R. Porter, 1955: The fine structure of cortical Components of *Paramecium multimicronucleatum*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1, 583—604.
- Sjöstrand, F. S., 1953: Systems of double Membranes in the Cytoplasm of certain tissue cells. *Nature (London)* 171, 31—32.
- 1955: The ultrastructure of the ground substance of the Cytoplasm; in: *Fine Structure of Cells*, 222—227. *Internat. Union of Biol. Sci., Ser. B, Nr. 21*, Groningen.
- 1956 a: Electron Microscopy of Cells and Tissues; in G. Oster and A. W. Pollister, *Physical Techniques in Biological Research* 5, 241—298, New York.
- 1956 b: Étapes du développement de la méthode de préparation des coupes de tissus ultrafines pour la microscopie électronique à haute résolution. In : *Les Techniques récentes en microscopie électronique et corpusculaire*, p. 151—161; *Colloques internat. du Centre nation. de la Recherche Scientifique*, Toulouse.

- Sjöstrand, F. S., and V. Hanzon, 1954: Electron Microscopy of the Golgi Apparatus of the exocrine Pancreas Cells. *Experientia* 10, 367.
- Small, J., and F. J. Wiercinski, 1955: The pH of plant cells. The pH of animal cells. *Protoplasmatologia*, Bd. II, B 2 c, Wien.
- Strugger, S., 1956: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Bauelemente des Zytoplasmas. *Naturw.* 43, 451—452.
- Weissenfels, N., 1957: Elektronenoptischer Nachweis von Schraubenstrukturen im Grundcytoplasma tierischer Zellen. *Naturw.* 44, 241—242.
- Wilson, J. W., 1954: Basophilic components of the Cytoplasm. *J. Histochem. a. Cytochem.* 2, 317—321.
- Wohlfarth-Bottermann, K. E., 1954: Cytologische Studien I, Zur sublichtmikroskopischen Struktur des Cytoplasmas und zum Nachweis seiner „Partikelpopulationen“. *Protoplasma* 43, 347—381.
- 1956: Protistenstudien VII, Die Feinstruktur der Mitochondrien von *Paramecium caudatum*. *Z. Naturforsch.* 11 b, 578—581.
- 1957 a: Cytologische Studien IV, Die Entstehung, Vermehrung und Sekretabgabe der Mitochondrien von *Paramecium*. *Z. Naturforsch.* 12 b, 164—167.
- 1957 b: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. *Naturw.* 44, 287—288.
- 1957 c: Cytologische Studien III, Die Eignung und Anwendung von Phosphorwolframsäure und Thalliumnitrat als Kontrastmittel zur Darstellung cytoplasmatischer Strukturen. *Mikroskopie (Wien)* 12, 74—81.

Aluminiumsalz-Wirkung auf Spirogyren und Zygnemen*

Von

Karl Höfler

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. Juni 1957)

Fluri (1909) hat zuerst beobachtet, daß *Spirogyra*-Zellen, die man drei Tage lang mit verdünnten (0,01—0,02%) Aluminiumsalzlösungen vorbehandelt hat, unplasmolysierbar werden. Er dachte, daß dies Phänomen auf Erhöhung der Permeabilität beruht. Szücs (1913) hat aber dann nachgewiesen, daß die Aluminiumsalze auf das Plasma von *Spirogyra* nicht permeabilitätserhöhend, sondern stark verfestigend wirken; die Erstarrung der Protoplasten bewirke die Unplasmolysierbarkeit, zugleich können die Chlorophyllbänder bei Schleuderung nicht mehr verlagert werden. Beide Autoren stellten fest, daß nach längerem Aufenthalt der Algen in reinem Wasser der normale Zustand hinsichtlich der Plasmolysierbarkeit und Zentrifugierbarkeit zurückkehrt. Während Szücs erhöhte Viskosität verantwortlich macht, führt Scarth (1923) die Aluminiumwirkung auf erhöhte Adhäsion des Plasmas an der Zellwand zurück.

Weber (1924) hat dann das Verhalten weiter geklärt. Er arbeitet mit Kurzversuchen. Taucht man Spirogyren, die unbehandelt mit Zucker oder CaCl_2 konvexe Plasmolyse geben, vor dem Eintragen in die Plasmolytika für einige Sekunden in eine 0,1%ige Lösung von Aluminiumnitrat, so tritt die Plasmolyse in ganz veränderter Form ein, nämlich mit tief konkaven Buchten, indem der Protoplast an vielen Stellen an der Wand haften bleibt (Abb. 1). Diese Konkavplasmolyse ist kein Übergang zu späterem konvexem Endstadium wie sonst so oft, sondern sie bleibt dauernd erhalten. Weber gebrauchte für diese abnormale Plasmolyseform den Ausdruck Krampfplasmolyse. Der zugrunde liegende Plasmazustand ist ein Vorstadium der von Fluri und Szücs beobachteten Plasmastarre (und des pathologisch veränderten Zustandes, in welchem durch Hypertonika keine Plasmolyse, sondern nur mehr ein Absterben unter Tonoplastenbildung bewirkt wird, vgl. Weber 1933). — In jenem Früh-

* Hans Fitting zum 80. Geburtstag gewidmet.

zustand der Aluminiumwirkung lassen sich die Chloroplasten durch Schleudern noch so leicht verlagern wie bei Kontrollen aus reinem Wasser; das Binnenplasma ist also zunächst noch nicht verändert, während die äußere Plasmaschicht schon verfestigt ist. Nach längerer Aluminium-einwirkung wird auch die Verlagerbarkeit der Plastiden in der Zentrifuge aufgehoben. Man muß annehmen, daß zuerst eine geringe Aluminiumsalz-menge in die Plasmaaußenschicht, später auch bis ins Binnenplasma dringt. An Spirogyren mit Gallertscheiden beobachtete Weber weiter nach einer wenige Sekunden währenden Aluminiumbehandlung eine Versteifung der Fadenmasse, die offenbar nicht durch Veränderungen im Plasmaschlauch, sondern durch solche in der Zellwand und der Gallerthülle verursacht wird.

Ich habe nun vor einigen Jahren (1951/52) vom Gesichtspunkt der vergleichenden Protoplastik die Ausbildung des Plasmalemmas



Abb. 1. Aus Weber 1924. *Spirogyra*-Zelle, *a* konvex plasmolysiert, Chloroplasten-band durch Zentrifugierung verlagert, *b* Krampfplasmolyse nach Aluminiumsalz-Einwirkung.

bei verschiedenen Pflanzenzellen untersucht. Bei *Spirogyra* (1951, S. 476, 1953) ergab sich gegenüber anderen Algenzellen eine „plasmatische Sonderorganisation“. Infolge der Zartheit des Plasmalemmas wird dieses durch wasserlösliche plasmaschädigende Stoffe leicht überrannt, wobei sich die Zellen ein und desselben Fadens meist ungleich verhalten, was zum kennzeichnenden Bild „bunter Nekrose“ führt.

Der Webersche Aluminiumversuch wurde nun in meinem Protoplasma-Praktikum mit Spirogyren oftmals wiederholt, und zwar stets mit positivem Erfolg. Einer wenige Sekunden währenden Einwirkung der 1/10%igen $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ -Lösung entspricht Versteifung und krampfartig-konkave Plasmolyse, wie sie Weber (1924) abgebildet hat, einer etwas längeren Einwirkung Unplasmolysierbarkeit und osmotischer Kollaps der Zellen im Hypertonikum.

Gelegentlich hatte ich aber beobachtet, daß *Zygnema*-Fäden, die den *Spirogyra*-Watten beigemischt waren, diese Aluminiumsalz-Wirkung vermissen ließen und eine Plasmolyse von mehr minder normaler Form ergaben.

Als ich nun bei meiner erwähnten Versuchsreihe (1951, S. 445) fand, daß Zygnemen auch hypertotonischer Sodalösung gegenüber allgemein viel resistenter als Spirogyren sind und mit einem derberen, schützend wirkenden Plasmalemma ausgestattet erscheinen, lag die Frage nahe, ob nicht auch die den Plasmazustand verändernde Wirkung der Aluminiumsalze mit der Ausbildung des Plasmalemmas der verglichenen Konjugaten in Zusammenhang steht. Ich habe dieser Frage im Frühjahr 1957 eine kleine Versuchsreihe gewidmet.

Bei Versuchen am 11. Mai stand u. a. eine einbändige *Spirogyra* ohne Querfalten zur Verfügung, bei der die Plasmolysierung in Traubenzucker

allgemein bald zur konvexen Endform führt (Abb. 2 a¹). Faßte man ein kleines Bündel der zarten Algenfäden mit der Pinzette, bewegte es 10 oder 15 Sekunden lang in der 1/10%igen $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ -Lösung, zog es nachher durch einen Waschtropfen und brachte es dann in den Beobachtungstropfen von 0,7 mol Traubenzucker, so erfolgte nirgends mehr eine Plasmaablösung, sondern es ergab sich typischer osmotischer Kollaps (Abb. 2 b, c [vgl. Küster 1929, S. 37]). Den Zellsäften wird, da Semipermeabilität besteht, osmotisch Wasser entzogen, aber die Volumverkleinerung erfolgt nicht unter Loslösung von den Zellmembranen, sondern unter Deformierung derselben.

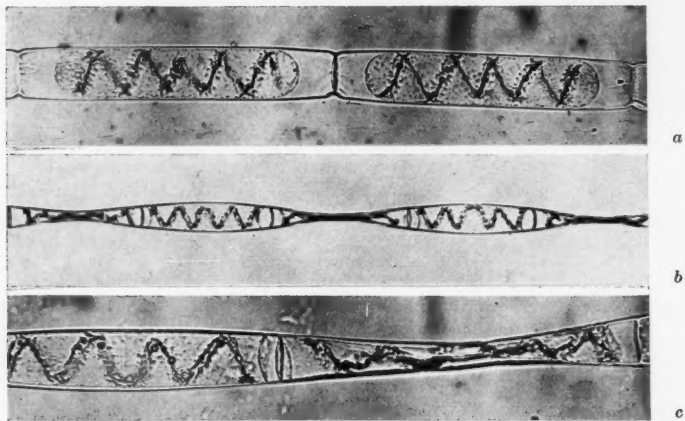


Abb. 2. *Spirogyra* sp. in 0,7 mol Traubenzucker plasmolysiert, a unvorbehandelt, b, c nach 10 Sek. Vorbehandlung mit 1/10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$: osmotischer Kollaps (Cytorhyse).

Im Gegensatz dazu ergab ein in ganz gleicher Weise behandeltes *Zygnema* sp. in allen Zellen Plasmolyse (Abb. 3 a).

Die Einwirkungszeit der Aluminiumsalzlösung wurde verdoppelt, auf 20 Sek. gesteigert. Es trat bei *Zygnema* die Plasmolyse langsamer ein als bei Kontrollen aus Wasser und die Protoplasten hielten anfangs an der Mitte der Querwände noch fest, sodaß sich vorübergehend zigarrenartige Formen ergaben, aber nachher rundeten sich die Protoplasten, und nur leicht unregelmäßige Meniskenformen und zur Querwandmitte führende Plasmastränge ließen andeutungsweise eine Aluminiumwirkung erkennen (Abb. 3 b). Es sind also die verwendeten, mit derberem Plasmalemma ausgestatteten *Zygnema*-Zellen durch das Aluminiumsalz kaum affiziert worden und nirgends hat verstärkte Adhäsion, eine wesentliche Erhöhung des Haftvermögens die Plasmolyse verhindert.

Ausführlichere Versuche habe ich dann in Wien mit einem Algenmaterial durchgeführt, das ich am 1. Juni 1957 in der austrocknenden

¹ Die Photos wurden von Herrn Dr. W. Uhl nach meinen Präparaten angefertigt, wofür ich ihm herzlich Dank sage.

Pfarrlacke (1200 m Seehöhe) ob der Tragöß am Südfuß des Hochschwab in der Nordsteiermark reichlich gesammelt hatte; es handelte sich um ein Wasserbecken auf tonigem Grund, das von den umliegenden Höhen her

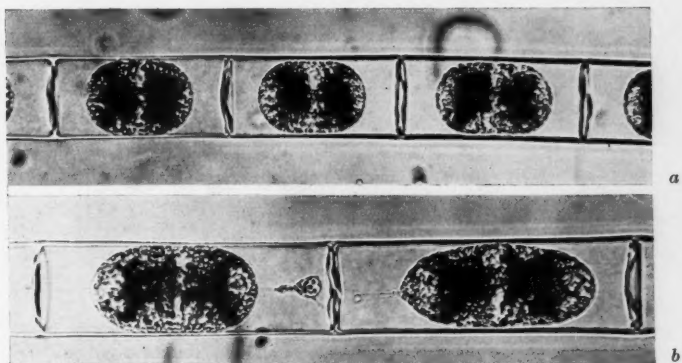


Abb. 3. *Zygnema* sp., mit Al-Salz vorbehandelt, a 10 Sek. Plasmolyseform unverändert, b 20 Sek. Plasmolyseform leicht verändert.

mit kalkreichem Quellwasser gespeist wird. Die Konjugatenwatten waren reichlich entwickelt am Grunde der 1–3 dm tiefen Lache, die nach ver-

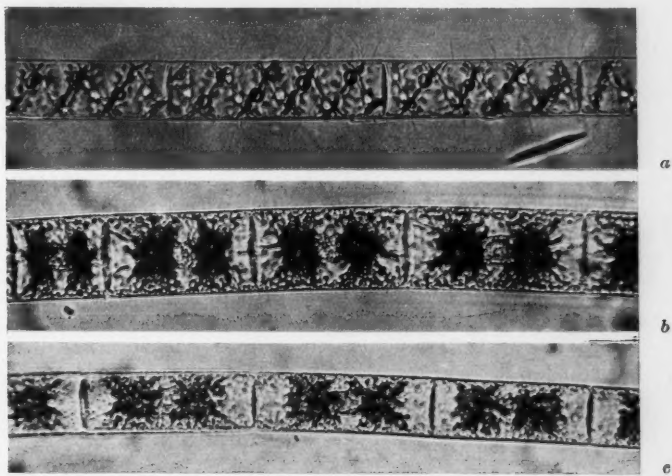


Abb. 4. Versuchsalgen aus Tragöß: a *Spirogyra* sp., b *Zygnema* I, c *Zygnema* II.

schiedenen Richtungen durchschritten wurde; stellenweise waren sie als Auftrieb an die Oberfläche gehoben. Sie bestanden größtenteils aus drei Zygmenalen (Abb. 4 a–c), einer zarten, einbändrigen, faltenlosen, 31–33 μ breiten *Spirogyra* sp., einem um 45–47 μ dicken *Zygnema* I und einem

davon deutlich verschiedenen, zarteren, etwa $31\text{--}32\ \mu$ breiten *Zygnema* II mit gestreckteren Zellen und länglicher Kernplasmabrücke zwischen den beiden leicht sternförmig ausgezogenen Chromatophoren. Konjugierendes,

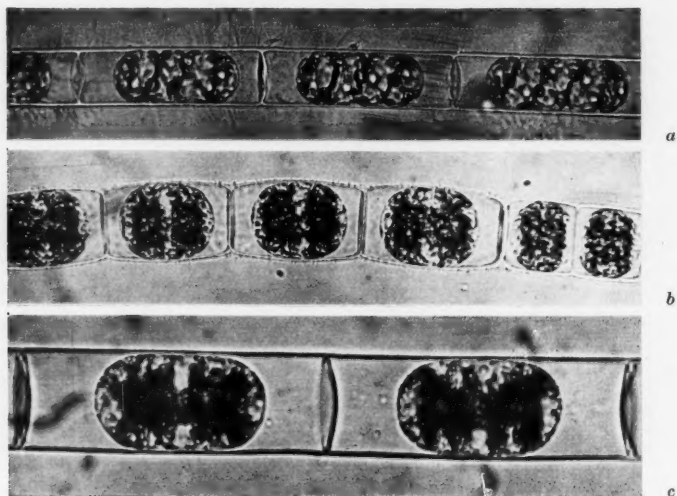


Abb. 5. Algen wie in Abb. 4, in Traubenzucker plasmolysiert.

bestimmbares Material wurde nicht gesammelt. In allen Versuchen konnte das Verhalten der drei Spezies vergleichend beobachtet werden.

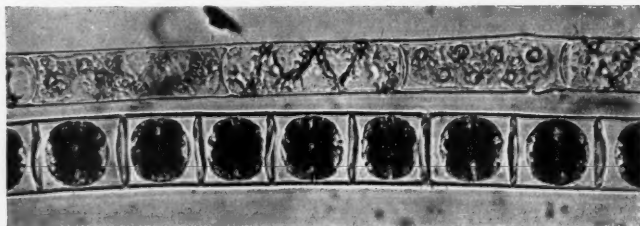


Abb. 6. *Spirogyra* und *Zygnema* I, nach Al-Salz-Behandlung in 0,8 mol Harnstoff.

In Traubenzucker und in Harnstoff (Abb. 5 a—c) ergaben die drei Algen unvorbehandelt eine normale, konvexe Plasmolyse. Nur war bei *Zygnema* II das Eintrittstempo und offenbar die Wasserpermeabilität des Plasmas viel höher als bei der *Spirogyra*. *Zygnema* I plasmolysierte rasch, aber doch langsamer als *Zygnema* II. Die Protoplasten von *Zygnema* II rundeten sich schon während des Eintritts der Plasmolyse konvex, die von *Zygnema* I

während oder bald nach der Erreichung des osmotischen Gleichgewichtes; wogegen bei der *Spirogyra* die Plasmolyse später und langsamer einsetzte, mit allseitiger Abhebung von den Wänden gestreckt begann und sich die

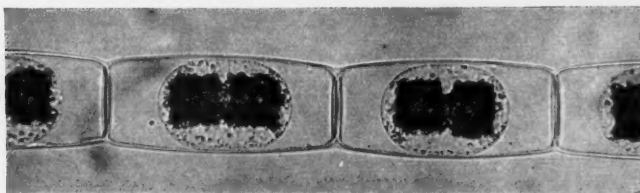


Abb. 7. *Zygnema* I, wie in Abb. 6 vorbehandelt, Plasmolyse normal.

Rundung der Enden und die seitliche Anlegung erst später vollzog. Weiterhin führte Harnstoffpermeation überall zu langsamer Rückdehnung des



Abb. 8. *Spirogyra* in 0,6 mol Harnstoff, Plasmolyseform durch das Al-Salz leicht verändert.

Protoplasten; Lenk (1956) hat das Tempo der Rückdehnung für zahlreiche Konjugaten plasmometrisch bestimmt.

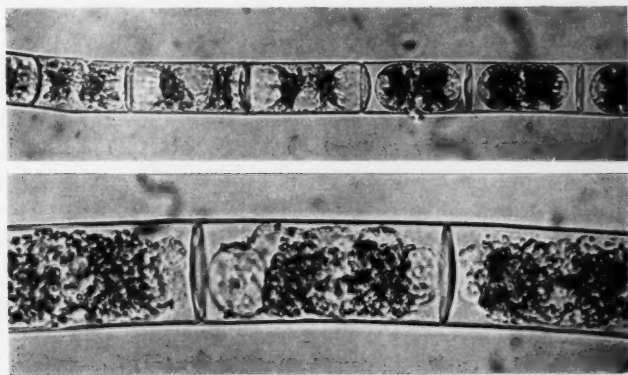


Abb. 9. *Zygnema* II nach Al-Behandlung: a „bunttot“, b Tonoplastenaustritt in nekrotischen Zellen.

Stückchen der Algenwatten — die ich mit Vorteil, während ich sie mit der Pinzette entnahm, mit einem Scherchen etwa 1 cm lang abschnitt — wurden wieder für 15 Sek. in $\frac{1}{10}\%$ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ getaucht, dann rasch durch

den Waschtropfen von Zucker oder Harnstoff gezogen und in den Beobachtungstropfen der gleichen Flüssigkeit übertragen, der nach ca. 1 Min. mit großem Deckglas bedeckt wurde.

Die *Spirogyra* reagierte überall in der bekannten Weise, sie vertrug eine etwas jähere Plasmolyse, wie sie die hypertonische Lösung von 0,8 mol Harnstoff bewirkt, überhaupt nicht mehr. Wie in Webers (1933) Versuchen wurden fast alle Zellen beim Losreißen von der Membran getötet. — *Zygnema* I ergab in denselben Präparaten überall nach der Aluminiumbehandlung noch eine völlig normale Konvexpasmolyse. Abb. 6 zeigt nebeneinanderliegende Fäden der *Spirogyra* und des *Zygnema* I in 0,8 mol Harnstoff, Abb. 7 einen *Zygnema*-Faden aus längeren Zellen.

Die schwächer hypertonische Lösung von 0,6 mol Harnstoff ließ bei *Spirogyra* die Protoplasten zum Teil am Leben, die Plasmolyseform war in solchen Zellen gegenüber den unbehandelten Kontrollen typisch verändert (Abb. 8).

Recht auffallend war indes das Verhalten von *Zygnema* II. Die zartere Alge reagierte ganz anders als das resistente *Zygnema* I (Abb. 9 a, b), sie kam in ihrem Verhalten den *Spirogyra*-Zellen nahe. Im Endbild ergab die Alge nach Vorbehandlung durch 15 Sek. mit $\frac{1}{10}\%$ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ in zahlreichen Versuchen „bunte Nekrosen“ (Abb. 9 a), d. h. ein Teil der Zellen hatte eine konvexe Plasmolyse eintreten lassen, die Mehrzahl war bei der Loslösung getötet worden. Kennzeichnend waren die Nekroseformen der durch Al erstarrten Protoplasten. In den meisten Zellen waren an den Zellpolen beiderseits große Tonoplastenblasen (vgl. Fluri 1909, S. 92, 110, Weber 1933) ausgetreten (Abb. 9 b).

Zählungen bunttoter Fäden vom 7. und 11. Juni führten zu Ergebnissen wie folgenden:

Zygnema II², 15 Sek. in $\frac{1}{10}\%$ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ kreisend bewegt, dann in 0,6 mol Harnstoff, Faden 1 nach 3–5 Min. durchgezählt.

lebend 1 2 1 2 2 = 8 = 80%

tot 1 1 8 22 1 = 33 = 20%

In manchen Fäden war der Anteil lebender, konvex plasmolysierter Zellen größer. — Faden 2, nach 24–27 Min. ausgezählt.

lebend 1 5 1 4 1 1 13 2 9 3 = 44 = 64%

tot 1 1 1 2 1 3 2 1 2 3 8 = 25 = 36%

In den toten Zellen waren die Chloroplasten hellgrün verfärbt, in den lebenden Protoplasten erschienen sie dunkelgrün.

Beigemengtes *Zygnema* I war im Durchschnitt nach $2\frac{1}{2}$ Min. gerundet, alle Zellen lebten, der Endgrad der Plasmolyse $G = 0,65$. Die *Spirogyra*-Zellen waren schief oder konkav plasmolysiert, größtenteils aber getötet.

In der Kontrolle ohne Aluminium-Vorbehandlung in 0,6 mol Harnstoff überall schöne Konvexpasmolyse, nachher Rückdehnung.

Von Interesse war mir die orientierende Beobachtung, daß die überlebenden Zellen vom *Zygnema* II die Plasmolyse ebenso oder fast ebenso schnell eintreten ließen wie die Zellen der Kontrolle, woraus wohl

² In meinen Protokollen provisorisch als „*Zygnema tonoplastogenum* ad. int.“ bezeichnet.

hervorgeht, daß in ihnen das Aluminiumsalz keine oder keine wesentliche Änderung der Wasserpermeabilität bewirkt hatte.

Die Photos der Abb. 4–8 wurden am 7. Juni von Dr. W. Url im Pflanzenphysiologischen Institut aufgenommen.

Bei der Wiederholung der Versuche am 11. Juni prüfte ich — bei höherer Temperatur um 23°C — auch die Wirkung stärkerer Lösungen von 1% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ auf mein Algenmaterial. Die *Spirogyra* wurde, wie zu erwarten, durchweg in einen Zustand versetzt, in welchem hypertotonische Lösung die Protoplasten tötete statt sie zu plasmolysieren — ganz wie in Webers 1933 beschriebenen Versuchen.

Das größere *Zygnema* I verträgt auch diese höhere Konzentration. Nach einer 20 Sek. dauernden Einwirkung und Übertragung in 0,6 mol

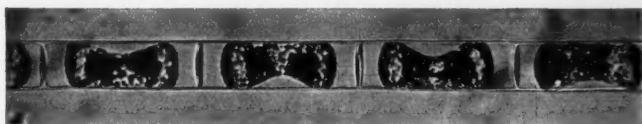


Abb. 10. *Zygnema* II in 0,6 mol Harnstoff, Plasmolyseform durch Al leicht verändert.

Harnstoff waren die Protoplasten, nach 2–5 Min. beobachtet, nur flach oder schief konvex an den Enden und oft einem Zellende genähert. Nach 8 Min. war aber allgemein Rundung eingetreten.

Eine Auszählung ergab

lebend	3	12	3	14	11	24	=	67	=	90½%
tot	1	1	1	1	1	1	=	7	=	9½%

In den toten Zellen waren Kern und Pyrenoide verschärft sichtbar, es war aber kein Tonoplastenaustritt erfolgt.

Wurde die Einwirkungszeit von 1% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ auf 30 Sek. erhöht, so ergab *Zygnema* I mehrfach zuerst eine trapezförmige Plasmolyse mit flach konkaven Seiten. Doch glätteten sich die Protoplasten, wo die Oberfläche freilag, bald flach konvex. In vielen anderen Fäden adhärten die Protoplasten an der Mitte der Querwände. Die Zellen aller Fäden überlebten die Plasmolysierung. Nachher erfolgte Rundung, wobei freilich die Menisken vielfach zunächst flach konvex blieben. Die Rundungszeit war etwa 15 Min. In einem anderen Versuch war konvexe Rundung schon nach 8 Min. erreicht; in ausgezählten Fäden war das Verhältnis lebender und toter Zellen 51 : 6 bzw. 90 : 4.

Von *Zygnema* II waren bei gleicher Behandlung fast alle Zellen getötet, nur ganz vereinzelte (weniger als 1%) überlebten.

Man wird nach diesen Beobachtungen nicht verallgemeinernd sagen dürfen, daß für Aluminiumionen die Protoplasten von *Spirogyra* empfindlich, die Protoplasten von *Zygnema* unempfindlich seien. Wir lernen in *Zygnema* II („tonoplastigonum“ ad int.) eine Form kennen, deren Reaktionsverhalten sich durchaus dem von Spirogyren bekannten nähert. — Abb. 10 entstammt einem Versuch, worin *Zygnema* II nach kurzer, 10 Sek.

dauernder Einwirkung von $\frac{1}{10}\%$ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ in 0,6 mol Harnstoff in manchen Fäden sogar buchtig-konkave Plasmolyse zeigt, wie sie an unvorbehandelten Kontrollen der Art niemals zur Beobachtung kam.

Auch umgekehrt wirkt Aluminiumsalz nicht auf alle *Spirogyren* in der typischen Art. Ich habe eine Ausnahme kennengelernt, die mir auch von ökologischem Gesichtspunkt von besonderem Interesse war. Es handelt sich um eine *Spirogyra* sp., die von Dr. U r l, Dr. D i s k u s und Dr. F e t z m a n n am 31. Mai 1957 im Ramsauer Schwaigermoos gesammelt und frisch nach Wien gebracht worden war. Die Art wird als *Spirogyra* RMK bezeichnet. Die Fäden sind um $50\ \mu$ breit, um 6–8mal so lang, haben ein schmales Chromatophorenband mit 5–10 Umläufen, keine Querfalten. Ich hatte die Alge seit vielen Jahren im westlichen Teil des „Hauptgrabens“, dort wo dessen Wasser durch ein Bächlein ein klein wenig Nährstoff-(Kalk-)zuschuß erhält, beobachtet. *Spirogyra* RMK ist empfindlich gegen hypertonische Harnstofflösung, die von den meisten *Spirogyra*-Arten, wie aus der Arbeit von L e n k (1956) hervorgeht, im Permeabilitätsversuch gut vertragen wird. Es ist die einzige *Spirogyra*, die vergesellschaftet mit einer reichen Artenauswahl von Desmidiaceen und anderen Mooralgen im Schwaigermoos auftritt. Fruch tend konnte ich die Art noch niemals auf finden.

Es war mir nun überraschend zu beobachten, daß diese *Spirogyra* RMK durch kurzdauernde Vorbehandlung mit Aluminiumsalz in ihrem Plasmolyseverhalten nicht oder fast nicht beeinflusst wird. Für 15 Sek. in $\frac{1}{10}\%$ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ und dann in 0,5 mol Traubenzucker gebracht, lösen sich die Protoplasten langsam ringsum von den Zellwänden ab und die Menisken runden sich bald flach konvex, während die Längsseiten noch freiliegen. Als bald teilen sich in längeren Zellen die Protoplasten in Stücke, die meist durch „grüne Brücken“ (vgl. E i b l 1939) verbunden bleiben, und die Teilprotoplasten legen sich den Zelllängswänden an, ganz wie in den Kontrollen. Die Teilstücke sind halbkugelig begrenzt, sie bleiben, wo grüne Brücken fehlen, stets durch Plasmalemmafäden³ verbunden (Abb. 11). — In einem Versuch, worin das Fadenbündel 10 Sek. in der Aluminiumlösung geschwenkt und dann in 0,5 mol Traubenzucker plasmolysiert war, war der Endgrad z. B. nach 9 Min.

$$\frac{(6 - 35) + (53 - 75) + (81 - 100,5)}{0 - 107} b = 11,4 \quad G = 0,55$$

Ein Einfluß der Aluminiumsalz-Vorbehandlung auf Plasmolyseform und -formverlauf war nicht zu sehen.

Eben diese, dem Hochmoor bzw. Zwischenmoor entnommene *Spirogyra* hat also wohl ein deutliches, die Aluminiumsalzwirkung abschirmendes

³ Wie H o f m e i s t e r (1954) auf breiter Versuchsgrundlage gezeigt hat, können Teilprotoplaste, die durch solche Plasmalemmafäden verbunden sind, wenn sie zu osmotischer Schwellung gebracht werden, leicht wieder verschmelzen; wogegen Nichtfusionierbarkeit die Regel ist, wo Verbindungsfäden fehlen.

Plasmalemma und steht dadurch im Gegensatz zu allen vordem geprüften *Spirogyra*-Arten.

Die Vorstellung liegt nahe, daß eben der Besitz des Plasmalemmas das Organisationsmerkmal ist, welches diese und nur diese *Spirogyra*-Art zum Leben im Hochmoor- bzw. Zwischenmoorwasser befähigt und sie soziologisch zum ständigen Mitglied der artenreichen Algenbiocönose macht. Es ist früher gezeigt worden (Höfler 1951, Höfler und Loub 1952), daß viele Desmidiaceen der Moore durch eine überraschend hohe Resistenz

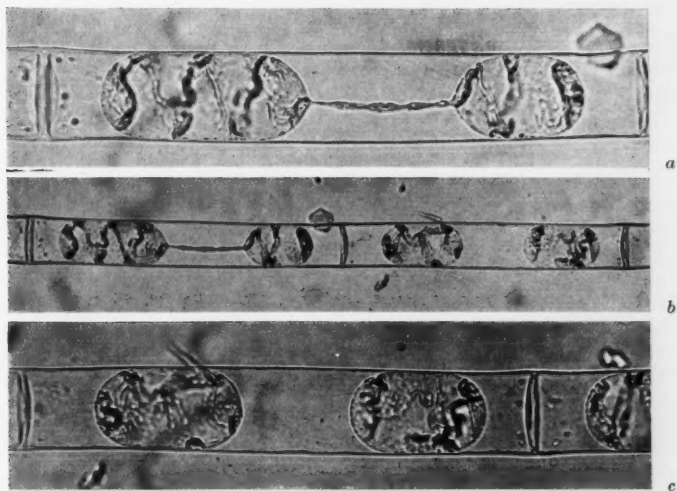


Abb. 11. „*Spirogyra* RMK“ aus einem Zwischenmoor (Schwaigermoos, Ramsau), Plasmolyseform trotz Al-Salz-Vorbehandlung normal geblieben.

gegen hypertontische Na_2CO_3 - und $\text{K}_2(\text{COO})_2$ -Lösung ausgezeichnet sind, die auf den Besitz eines derben schützenden Plasmalemmas beruhen dürfte.

Url (1955) findet verschiedene Desmidiaceen hoch resistent auch gegenüber Schwermetallsalzen (Zinksulfat, Mangan-, Vanadyl-, Chromsulfat), wobei die Resistenz teilweise bis in stark hypertontische Konzentrationsstufen reicht oder doch bis zu Konzentrationen, die knapp unter der isotonischen liegen. *Spirogyra* RMK ist bei weitem nicht so extrem resistent, aber doch, wie es scheint, vor kurzfristiger Einwirkung der Aluminiumsalze auf das Binnenplasma besser geschützt als alle sonstigen bisher geprüften *Spirogyra*-Arten.

Über die Wirkung von Aluminiumsalzen auf andere Zellsorten liegen, seit den Ausgangsarbeiten von Fluri und Szücs, im Schrifttum nur spärliche Angaben vor. An Blattrippenzellen von *Helodea* hat Mißbach (1928) den Einfluß von Aluminiumionen auf Plasmolyseform, Zerfällbarkeit und Wiederverschmelzung der Teilprotoplasten studiert. Doch kann auf einen Vergleich unserer Befunde mit jenen noch nicht eingegangen werden.

Zusammenfassung

Wir glauben, die beschriebenen Versuche folgendermaßen deuten zu dürfen.

Die im Kurzversuch beobachtete plasmatische Wirkung verdünnter Aluminiumsalzlösungen hängt weitgehend von der Ausbildung des Plasmalemmas der geprüften Zellen ab. Bei fast allen *Spirogyra*-Arten dringt die Lösung in die äußere Plasmaschicht, erhöht die Adhäsion, führt zu Krampfplasmolyse (Weber), und versetzt weiter die Protoplasten in einen Zustand, in dem sie durch die mit der Plasmolyse verbundenen Loslösung von der Zellwand getötet werden. Bei den mit derberem Plasmalemma ausgestatteten Zellen von *Zygnemen* unterbleibt diese Wirkung oder findet sich in gleichen Kurzversuchen nur andeutungsweise wieder.

Es handelt sich aber nicht etwa um durchgreifende Unterschiede der Gattungen *Spirogyra* und *Zygnema*. Eine im Moorwasser heimische *Spirogyra* RMK ist gegen verdünnte Aluminiumsalzlösung im Kurzversuch unempfindlich, sie besitzt wohl ein entsprechend schützendes Plasmalemma. Umgekehrt wurde auch aus der Gattung *Zygnema* bisher eine Art gefunden, die empfindlich wie die meisten Spirogyren ist und auf kurzfristige Aluminiumsalzeinwirkung ganz ähnlich wie diese reagiert.

Literatur

- Eibl, K., 1939: Plasmolytische Untersuchungen an den Plastiden von *Spirogyra*. Protoplasma 33, 161.
- Fluri, M., 1909: Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma. Flora 99, 81.
- Höfler, K., 1951: Plasmolyse mit Natriumkarbonat. Zur Frage des Plasmalemmas bei Süßwasseralgen und bei Gewebszellen von Landblütenpflanzen. Protoplasma 40, 426.
- 1952: Zur Kenntnis der Plasmahautschichten. Ber. dtsch. bot. Ges. 65, 391.
- 1953: Zur Frage des Plasmalemmas bei *Spirogyra*. Protoplasma 42, 334.
- und W. Loub, 1952: Algenökologische Exkursion ins Hochmoor auf der Gerlosplatte. S.ber. Öst. Akad. Wiss., math.-naturw. Kl., Abt. I, 161, 263.
- Hofmeister, L., 1954: Mikrurgische Untersuchungen über die geringe Fusionsneigung plasmolysierter, nackter Pflanzenprotoplasten. Protoplasma 43, 278.
- Küster, E., 1929: Pathologie des Protoplasmas. Protoplasma-Monographien, Bd. 3, Berlin.
- Lenk, I., 1954: Zur Spirogyrenflora Niederösterreichs. Verh. Zool.-Bot. Ges. 94, 150.
- 1956: Vergleichende Permeabilitätsstudien an Süßwasseralgen (Zygnemataceen und einigen Chlorophyceen). S.ber. Öst. Akad. Wiss., math.-naturw. Kl., Abt. I, 165, 173.
- Milbach, G., 1928: Versuche zur Plasmaviskosität. Protoplasma 3, 327.
- Searth, G. W., 1923: Adhesion of protoplasm to cell wall and the agents with cause it. Transact. R. Soc. Canada, Sect. V, 17, 137.
- Szücs, J., 1913: Über einige charakteristische Wirkungen des Aluminiums auf das Protoplasma. Jb. wiss. Bot. 52, 269.
- Url, W., 1955: Resistenz von Desmidiaceen gegen Schwermetallsalze. S.ber. Öst. Akad. Wiss., math.-naturw. Kl., Abt. I, 164, 207.
- Weber, F., 1924: Krampfplasmolyse bei *Spirogyra*. Pflügers Arch. 206, 629.
- 1953: Aluminiumsalz-Wirkung und Plasmolyse-Permeabilität. Protoplasma 17, 471.

Sind die „Cytoplasmakugeln“ von *Delphinium* X-Körper?

Von

Liselotte Reiter und Friedl Weber

Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen, Universität Graz

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. Juli 1957)

Scharinger (1936) hat in den Perianthblätter von *Delphinium cultorum* Voss in den Epidermiszellen „eigenartige Cytoplasmakugeln“ gesehen: sie sind meist in der Einzahl vorhanden, manchmal auch drei oder vier in einer Zelle. Die Größe dieser Cytoplasmaballen ist verschieden, in der Regel haben sie etwa die Größe des Zellkernes, sie können aber auch größer oder kleiner sein. Diese Cytoplasmagebilde sind im allgemeinen kugelig, selten birnförmig oder anders gestaltet. Die Cytoplasmaballen zeigen stets in ihrem Inneren stark lichtbrechende Tröpfchen oder Körnchen von verschiedener Größe und wechselnder Anzahl. Über das Wesen dieser Cytoplasmakugeln hat Scharinger keine Angaben gemacht.

Zur Zeit der Untersuchungen von Scharinger war es erst wenig bekannt, daß in den Zellen viruskranker Pflanzen, besonders in der Epidermis, nicht selten kugelige, protoplasmatische Einschlusskörper auftreten, die in der englischen Literatur als „X-bodies“ bezeichnet werden. Nach den ausgezeichneten Abbildungen, die Scharinger von den „Cytoplasmakugeln“ von *Delphinium cultorum* brachte, erinnern diese sehr, ja gleichen dem Aussehen nach vollkommen, solchen Virus-X-Körpern, wie sie bei virusinfizierten Solanaceen (Lit. bei Bawden 1950), in letzter Zeit auch für Cactaceen (Weber und Kenda 1952, Weber, Kenda und Thaler 1953, Amelunxen 1953, Miličić und Plavšić 1956) und für *Aeonium* (Weber 1954, Reiter 1955) beschrieben worden sind.

Eine neuerliche Untersuchung der „Cytoplasmakugeln“ von *Delphinium* und über ihr Vorkommen schien daher angezeigt und zwar mit der Fragestellung, ob es sich dabei um normale Inhaltskörper gesunder Pflanzen handelt oder um Einschlusskörper virusinfizierter Exemplare. Zunächst wurde ermittelt, daß in Blütenzellen im Versuchsgarten des Instituts kultivierter Pflanzen von *Delphinium cultorum* auch im laufenden Jahr (1957) Cytoplasmakugeln zu sehen waren, und zwar von ganz solcher Art,

wie sie Scharinger 1936 aufgefunden hat (Abb. 1). Es ist hervorzuheben, daß die Cytoplasmakugeln keineswegs in allen Epidermiszellen vorkommen, am häufigsten sind sie zu sehen in Zellen der oberen Epidermis des Sporns, aber auch hier sind sie nur in einzelnen Zellen oder Zellgruppen zu finden. Bemerkenswert ist es auch, daß gegen das Ende der Blühperiode

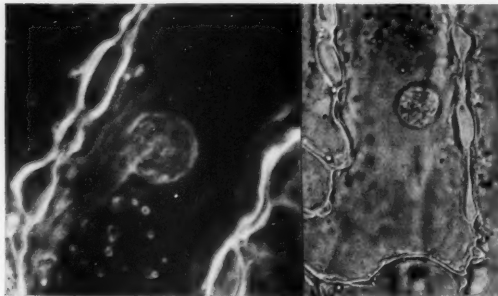


Abb. 1. *Delphinium*. Perianth-Epidermis. „Cytoplasmakugeln“, links Phasenkontrast-Bild.

der Infloreszenz die Cytoplasmakugeln nicht mehr zu finden sind. Von X-Körpern ist es ebenfalls bekannt, daß sie nur temporäre Bildungen sind (Zech 1952).

Von den im Grazer Botanischen Garten in Kultur befindlichen *Delphinium*-Arten wurden folgende untersucht: *D. azureum*, *D. reynierii*, *D. caucasicum*, *D. sul-*

furicum, *D. alpinum*, *D. Ajacis*, und *D. californicum*. Von diesen Species fanden sich nur bei *D. californicum* Cytoplasmakugeln. Das sporadische Vorkommen dieser auffallenden Gebilde spricht wohl zugunsten der Vermutung, daß es sich um X-bodies handeln könnte, denn von diesen ist bekannt, daß sie in viruskranken Blättern auch immer nur in einzelnen Zellen oder Zellgruppen auftreten. Bei Kakteen und anderen Pflanzen, die an einer Virose leiden und in den Zellen X-Körper enthalten, ist es nicht selten, daß, abgesehen von den cytoplasmatischen Zelleinschlüssen, auch noch kristalloide Einschlusskörper (Virus-Eiweißkristalloide) vorkommen. Bei *Delphinium* konnten bisher solche Kristalloide außerhalb oder neben den Cytoplasmaballen nicht gefunden werden. *Delphinium* wird nicht selten von verschiedenen Viren befallen. Pape (1955) erwähnt Mosaikkrankheiten und eine Ringfleckenkrankheit. Die *Delphinium*-Pflanzen, die Cytoplasmakugeln im Leibe hatten, wiesen äußerlich keine auffallenden Krankheitssymptome auf, nur bei *Delphinium reynierii* zeigten einzelne Blätter mosaikartig gelbe Flecken; aber gerade bei dieser Spezies wurden keine X-Körper gefunden.

Reiter (1957) ist es gelungen, die X-Körper viruskranker *Aichryson* × *domesticum*-Blätter bei Behandlung mit dem lipophilen Fluorochrom Coriphosphin besonders im pH-Bereich von 4 bis 6 zu intensiver gelbgrüner Fluoreszenz zu bringen. Es ergab sich nun bei Fluorochromierungsversuchen, daß sich die Cytoplasmakugeln von *Delphinium* in ganz gleicher Weise



Abb. 2. *Delphinium*. Perianth-Epidermis. Fluoreszenz der „Cytoplasmakugeln“ nach Fluorochromierung mit Coriphosphin.

verhalten. Auch sie zeigen bei Fluorochromierung mit Coriphosphin eine sehr intensiv gelbgrüne Fluoreszenz und werden dadurch vital-mikroskopisch außerordentlich leicht sichtbar (Abb. 2). Die photographischen Aufnahmen werden allerdings bei der im Fluoreszenzmikroskop erforderlichen längeren Expositionszeit unscharf, da die X-Körper bei *Delphinium* sich ständig in wackelnder Bewegung befinden. Dieses gleiche fluoreszenzoptische Verhalten der Cytoplasmakugeln von *Delphinium* und der X-Körper von *Aichryson* darf wohl zugunsten der Vermutung gebucht werden, daß die von Scharinger entdeckten Cytoplasmakugeln von *Delphinium cultorum* Voss Virus-X-Körper sind.

Es ist geplant zu untersuchen, ob Sämlinge solcher *Delphinium*-Pflanzen X-bodies entwickeln oder nicht; es ist ja die Regel, daß Viren durch Samen nicht übertragen werden. Sobald X-Körper-freie Pflanzen zur Verfügung stehen, können auch Infektionsversuche vorgenommen werden, um die eingangs aufgeworfene Frage einer definitiven Entscheidung zuzuführen.

Zusammenfassung

Die von Scharinger in den Epidermiszellen von *Delphinium cultorum* Voss aufgefundenen „Cytoplasmakugeln“ verhalten sich fluoreszenzoptisch in gleicher Weise wie die von Reiter beschriebenen X-bodies von *Aichryson*. Dies spricht dafür, daß die „Cytoplasmakugeln“ von *Delphinium* Virus-Einschlußkörper sind.

Literatur

- Amelunxen, F., 1955: Beobachtungen über die Entwicklung der Eiweißspindeln bei Cactaceen. *Protoplasma* 45.
Bawden, F., 1950: *Plant Viruses and Virus Diseases*. Waltham, Mass.
Miličić, D., und B. Plavsić, 1956: Eiweißkristalloide in Kakteen-Virusträgern. *Protoplasma* 46.
Pape, H., 1955: *Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen*. IV. Aufl. Berlin-Hamburg.
Reiter, L., 1955: Virus-Übertragung zwischen *Aichryson*-Arten. *Protoplasma* 45.
— 1957: Vitale Fluorochromierung pflanzlicher Viruseinschlußkörper. *Protoplasma* 48.
Scharinger, W., 1956: Cytologische Beobachtungen an Ranunculaceen-Blüten. *Protoplasma* 25.
Weber, F., und G. Kenda, 1952: Die Viruskörper von *Opuntia subulata*. *Protoplasma* 41.
— und I. Thaler, 1953: Eiweißspindeln und cytoplasmatische Einschlußkörper in *Pereskopsis*. *Protoplasma* 42.
— 1954: Ist die Panaschierung des Zimmeräoniums eine Virose? *Öst. Bot. Z.* 101.
Zech, H., 1952: Untersuchungen über den Infektionsvorgang und die Wanderung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper. *Planta* 40.

Das Verhalten einiger Cyanophyceen bei osmotischen Impulsen

Untersuchungen zur Plasmolysierbarkeit der Cyanophyceen

Von

Sieglinde Pernauer, Gmunden O.-Ö.

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Juli 1957)

Inhalt	Seite
Einleitung	262
I. Untersuchungen zur Plasmolysierbarkeit einiger Süßwassercyanophyceen	266
1. Material und Methodik	266
2. Die Veränderungen in hypertonischen Medien	267
Protokoll A	276
3. Die Reversibilität der Plasmolyse	277
Protokoll B	279
4. Grenzwerte für Plasmolyse und Bewegung	280
II. Osmotisches Verhalten, Plasmolyseresistenz und Permeabilität einer <i>Oscillatoria</i> aus der Lagune von Venedig	281
1. Versuchsmaterial und Methodik	281
Beschreibung des Versuchsobjektes	281
Standort	282
Versuchsmethode	282
2. Die morphologischen Veränderungen beim osmotischen Eingriff	283
3. Plasmolyse und Bewegung	284
Protokoll C	286
Protokoll D	288
4. Osmotische Anpassung an eingegengtes und verdünntes Seewasser	288
Protokoll E	290
Zusammenfassung und Besprechung	291
Literatur	293

Einleitung

Hugo de Vries (1877) versteht unter Plasmolyse „die Ablösung des lebenden Protoplasmas von der Zellwand durch wasserentziehende Mittel. Dieser Bezeichnung entsprechend werde ich“, definiert er, „Zellen,

in denen der protoplasmatische Wandbelag allseitig oder auch nur stellenweise von der Wand abgelöst ist, plasmolytisch nennen“.

Zehn Jahre nachdem de Vries diese Definition verfaßt hat, weist die Literatur die erste Stellungnahme zur Plasmolysierbarkeit der Cyanophyceen auf (Borzi 1886). Borzi ist der Überzeugung, daß eine Plasmolyse bei den Cyanophyceen nicht möglich ist. Seither hat man sich immer wieder mit dieser Frage beschäftigt, man ist jedoch zu keinen übereinstimmenden und einander entsprechenden Resultaten gelangt.

Fischer (1897) sieht, daß sich in 5% KNO_3 der Cyanophyceen-Protoplast allseits von der Wand zurückzieht „unter allen Erscheinungen einer echten Plasmolyse, nicht bloß einer durch Wasserentziehung herbeigeführten Schrumpfung“. Es ist dies das einzige Mal, daß in der Literatur eine Blaualgenplasmolyse mit allseitiger Loslösung des Protoplasten verzeichnet ist. Cholnoky (1937) weist nach Untersuchung verschiedener Cyanophyceen darauf hin, daß sie keine „komplett konvexen Plasmolyseformen“ zeigen. Er beschreibt aber für den Vorgang der Deplasmolyse einen vorübergehenden Zustand, der einer echten konvexen Plasmolyse weitgehend gleicht. Von mehreren Autoren aber wird konkave Plasmolyse an Cyanophyceen beobachtet. So erzielt Brand (1903), der auch erstmalig die hohe Permeabilität des Plasmas der Cyanophyceen nachgewiesen hat, nur durch Anwendung sehr hoher Konzentrationen geringe Ablösung des Plasmas an vereinzelt Stellen. Konkave Plasmolysen beschreiben ferner Prát (1925) und Schönleber (1936). Die letztgenannte ergänzt aber, daß die Zellen — sie arbeitet hauptsächlich mit *Scytonema* — in wasserentziehenden Mitteln nicht immer mit Plasmolyse, sondern häufig mit einem Kollaps reagieren. 1951 stellt auch Höfler an *Synechococcus aeruginosus* Konkavplasmolyse fest, und Kuchar (1949) studiert deren „Formverlauf“ an *Oscillatoria limosa* und *O. tenuis*.

Kohl (1903) und Krenner (1925) betrachten die Kontraktion des Cyanophyceenprotoplasten nicht als Plasmolyse, sondern bezeichnen diesen Zustand ausschließlich als Schrumpfung und unterscheiden ihn damit streng von dem plasmolytischen Zustand der Zellen höherer Pflanzen. Auch Schmid (1923), der vor allem *Oscillatoria Jenensis* untersucht, vermeidet den Ausdruck Plasmolyse, weil er in der Starrheit der Zellmembran und in der losen Verbindung zwischen Membran und Plasma Bedingungen für das Eintreten einer Plasmolyse sieht. Er hält die Kontraktion nur für einen der Plasmolyse entsprechenden Vorgang. Wie schon Brand (1903) glaubt er, daß die Konzentration des wasserentziehenden Mittels weit über der der Blaualgenzelle liegen müsse, um osmotisch wirksam sein zu können. Elo (1937) erzielt in Azetamid, Äthylenglykol, Propionamid, Glycerin, Erithrit und Harnstoff, also in kleinmolekularen Anelektrolyten, Plasmolysen an *Oscillatoria limosa* und *O. princeps*, während seiner Aussage nach die Cyanophyceen in den Lösungen der meisten anderen Stoffe Plasmolyse vermissen lassen.

Ursache der kontroversen Ergebnisse ist der spezifische Bau der Cyanophyceenzelle, auf dem wohl das spezifische Verhalten bei osmotischen

Impulsen beruht, woraus eben die Unsicherheit der Autoren in der Benennung der osmotischen Vorgänge und in der Zuordnung zu den entsprechenden Vorgängen bei höheren Pflanzen erwächst.

Küster (1929) weist mehrmals darauf hin, daß die Plasmolyse der Pflanzenzelle einen Gehalt der Zelle an Zellsaft und damit an Zellsafräumen voraussetzt. „Behandelt man Zellen, deren Lumen durchaus von Protoplasma erfüllt ist oder nur bescheidene Mengen von Zellsaft birgt, mit hinreichend starken Lösungen, so treten Formveränderungen auf, die sich von der typischen Plasmolyse oftmals wesentlich unterscheiden.“ An Hand von *Rivularia*-Versuchen führt Küster die Abhängigkeit der Plasmolysierbarkeit der Zellen vom Vorhandensein einer Vakuole vor. „... die plasmareichen Zellen am Fußende des Fadens zeigen keine Plasmolyse, während in den langgestreckten, schmalen, zellsaftreichen Zellen des peitschenschnurähnlichen Endes eine deutliche Trennung des Zellinhaltes von der Membran eintritt.“

Da bei den meisten Blaualgen ein typischer Zellsafräum fehlt, wird von vielen Autoren die Cyanophyceenplasmolyse angezweifelt und bestritten. So lehnt z. B. Kohl (1903) aus diesem Grunde die Bezeichnung Plasmolyse bei Cyanophyceen ab. Fischer (1905) dagegen betont, daß für die Plasmolysierbarkeit nicht die Vakuole, sondern eine semipermeable Hautschicht das Ausschlaggebende sei. Sogar Küster scheint später die Kontraktion des vakuolenfreien Protoplasmas gewisser Cyanophyceen als Plasmolyse zu betrachten, wie aus den *Scytonema*-Versuchen seiner Schülerin Schönleber (1936) hervorgeht: es „kann die Plasmolyse nach Küster auf eine Entquellung des Plasmas zurückgeführt werden“.

Ein zweiter wesentlicher Unterschied gegenüber den Zellen höherer Pflanzen liegt im spezifischen Bau der Cyanophyceenmembran und, wie Cholnoky (1937) aufweist, sind die Zellwände der Blaualgen „nicht nur chemisch, sondern auch physiologisch von den analogen Gebilden höherer Pflanzen verschieden“. Häufig wird eine Verwachsung der Membran mit dem Protoplasten angenommen (Brand 1903, Mühldorf 1938, Drawert 1948) oder es wird ein gesondertes Vorhandensein der Zellwand überhaupt geleugnet (Bornet und Flahault 1886, Borzi 1886, Krenner 1925, Mühldorf 1937, Küster 1942). Geitler (1936) tritt für die Existenz einer Eigenmembran ein, die bei einzelnen Arten sehr zart sein kann. Sie läßt sich durch Auflösung des Protoplasmas in bestimmten Reagenzien nachweisen (Gomont 1892, Geitler 1936). Den zarten Membranen, vor allem unbescheideter Zellfäden, wird große Elastizität nachgesagt (Correns 1897, Kolkwitz 1897, Schmid 1923, Ullrich 1926). Cholnoky (1937) schreibt den Wänden der Cyanophyceenzelle schwere Durchlässigkeit für Plasmolytika zu und sieht darin die Ursache für die Schrumpfung der Membranen beim Einwirken wasserentziehender Mittel.

Auf die „dickflüssige Beschaffenheit“ des Protoplasmas wird von Geitler (1930, 1932) hingewiesen. Vielfach glaubt man in der hohen Viskosität einen weiteren Grund zur Unvollständigkeit der Blaualgen-

plasmolyse zu erkennen. Cholnoky (1937) lehnt diese Vermutung ab und stellt ihr entgegen, daß „das Bestreben nach einer Abrundung unverkennbar“ sei. In der hohen Adhäsion des Plasmas an den Wänden in Verbindung mit der Schwerdurchlässigkeit glaubt Cholnoky die Ursache der Unvollständigkeit der Plasmolyse zu erkennen.

Besonders interessant ist die erst in jüngerer Zeit ausgesprochene Stellungnahme zur Plasmolysierbarkeit der Cyanophyceen von Drawert (1948), gewonnen an Versuchen mit *Oscillatoria Borneti*. Sein Urteil lautet: „Alle bisher als Plasmolyse bezeichneten Loslösungen des Protoplasten von der Membran sind wohl letale Erscheinungen“ und „es kommt zu Zerreißungen in der Übergangszone Membran/Plasma, was ... zum Absterben des Protoplasten führt, falls er nicht schon vorher durch die starke Kontraktion letal geschädigt worden ist.“ Drawert meidet konsequent den Begriff Plasmolyse, da es sich nach seinem Dafürhalten „nicht mehr um einen vitalen Vorgang handelt“. Sollte die Schrumpfung des Blaualgenprotoplasten tatsächlich nur eine „Scheinplasmolyse“ sein?

Natürlich wird durch diese Voraussetzungen (Schwerdurchlässigkeit der Membran, feste Verbindungen zwischen Membran und Plasma, Tötung der Zelle durch hypertonische Medien) die Möglichkeit der Bestimmung des osmotischen Wertes auf grenzplasmolytischem Wege sehr in Frage gestellt. Zudem erklären, wie schon erwähnt, Brand (1903) und Schmid (1923), daß nur eine große Differenz zwischen der Konzentration in- und außerhalb der Zelle Plasmolyse bzw. Kontraktion bewirkt. Obendrein wird die Bestimmung noch erschwert durch das oft sehr ungleichmäßige Verhalten der Zellen verschiedener Fäden, ja sogar ein und desselben Fadens (Schönleber 1937, Drawert 1948).

Es erscheint also durchaus nicht verwunderlich, daß die Anwendung verschiedener Methoden zur Bestimmung des osmotischen Wertes bei Blaualgen versucht wird. Der üblichen, grenzplasmolytischen Methode bedienen sich Klebahn (1922) und Schönleber (1937). Krenner (1923) arbeitet eine Grenzschrumpfungsmethode aus, während Schmid (1923) die Verkürzung des ganzen Fadens in hypertonischen Medien zur Messung des osmotischen Wertes heranzieht. Schmid hat mit dieser Methode, wie leicht ersichtlich, nicht den osmotischen Wert, sondern die Saugkraft im Sinne Ursprungs gemessen. Harder (1917) findet osmotische Grenzwerte an Hand der Konzentrationen, die auf künstlichen Nährböden der Entwicklung der Cyanophyceen eine Grenze setzen. Die durch die verschiedenen Methoden gewonnenen Werte variieren zwischen 5 und 20 Atmosphären. Nur Schmid erhält naturgemäß niedrigere Werte (max. 0,65 Atm.).

Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen, die in den Jahren 1953 bis 1956 ausgeführt wurden, war es, das osmotische Verhalten der Cyanophyceen zu untersuchen und die Plasmolysierbarkeit einiger Blaualgen zu prüfen, wobei das Hauptaugenmerk bei den Versuchen darauf gelenkt werden sollte, inwieweit die Cyanophyceenplasmolyse eine vitale Reaktion, also eine echte Plasmolyse sei.

1. Untersuchungen zur Plasmolysierbarkeit einiger Süßwasser-cyanophyceen

1. Material und Methodik

Zu den vorliegenden Versuchen an Cyanophyceen wurden neben einer Brackwasserform, mit der sich der zweite Teil der Arbeit beschäftigen soll, hauptsächlich *Oscillatoria limosa* und *Tolypothrix distorta* herangezogen. Nebenbei wurden

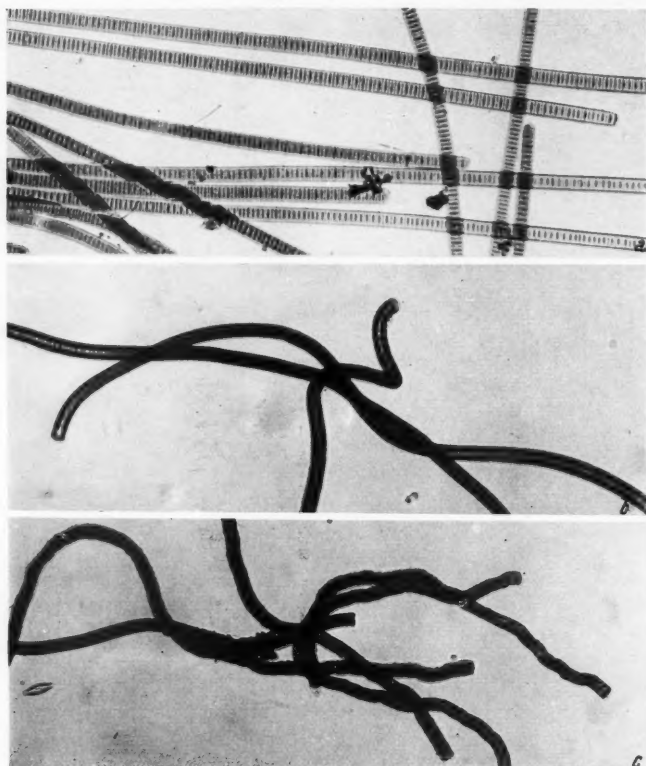


Abb. 1. *Oscillatoria limosa*, 160mal. a in normalem Zustand, b sofort nach dem Durchsaugen von 0,4 mol Traubenzucker, c einige Sekunden später.

orientierende Beobachtungen an einigen weiteren Vertretern der Gattung *Oscillatoria* und an *Rivularia haematites* durchgeführt.

Das reichliche Auftreten von *Oscillatoria limosa* zu bestimmten Zeiten des Jahres und die günstige Lage der Standorte ließ gerade nach dieser Cyanophycee greifen, da so die Möglichkeit gegeben war, stets frisches Material zu den Experimenten zu verwenden. Die Staubecken des Wienflusses in Hütteldorf und die Donauauen von Stockerau erwiesen sich als günstige Sammelplätze in den Monaten März, April, Mai und bei anhaltender kühler Witterung auch noch im Juni. Mit

dem Eintreten sommerlicher Wärme verschwinden die aufgetriebenen Oscillatorienwatten stets an den genannten Sammelplätzen.

Die Oscillatorien können in den Sammelfläschchen nie lange frisch erhalten werden. Durch Aufbewahrung des Materials in lichten nordseitigen Fenstern oder durch Einstellen der Gläser in ein gut beleuchtetes Fließwasserbecken konnte die Lebensdauer der Algen etwas erhöht werden, sie überstieg aber nie den Zeitraum von zehn bis vierzehn Tagen.

Tolypothrix distorta und *Ripularia haematites* wurden aus der Krustensteinregion am Ostufer des Traunsees in Oberösterreich bei der „Ansetz“ gesammelt. Diese Algen wurden stets mit den Krustensteinen in größeren Glasgefäßen aufbewahrt.

Als Versuchsreagenzien dienten volumolare Lösungen von Traubenzucker, Rohrzucker, Calciumchlorid und Harnstoff. Einige wenige Versuche wurden mit

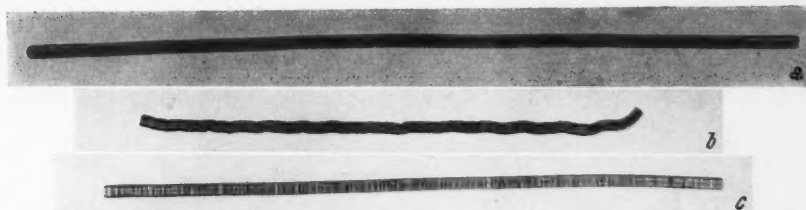


Abb. 2. *Oscillatoria limosa*. a normaler Faden, b derselbe Faden sofort nach dem Durchsaugen von 0,4 mol Traubenzucker, c derselbe Faden etwa 10 Minuten später.

Glyzerin und konzentriertem Seewasser angestellt. Die betreffende Lösung wurde entweder mit Hilfe eines Filtrierpapierstreifens unter dem Deckglas durchgesaugt oder das Versuchsobjekt kam nach Eintauchen in einen Tropfen der bestimmten Lösung in einen weiteren Tropfen derselben Lösung zur Untersuchung. In den meisten Fällen war die erste Methode trotz ihrer minderen Genauigkeit vorzuziehen, da die Beobachtung sofort beim Herankommen der Lösung an das Versuchsobjekt beginnen konnte.

2. Die Veränderungen in hypertonischen Medien

Wird ein Cyanophyceenfaden in ein hypertonisches Medium gebracht, so durchläuft er mehrere einander ablösende und einander überschneidende Stadien, ehe Plasmolyse eintritt. Zunächst zucken die Fäden von *Oscillatoria limosa* zusammen, wenn sie die erhöhte Trauben- oder Rohrzuckerkonzentration erreicht. Häufig krümmen sie sich in mehr oder minder regelmäßigen, aber stets gleichsinnigen Windungen. Schönleber (1936) beschreibt schraubige Deformationen als Reaktion auf umgebende Hypertonie an *Scytonema julianum* und betrachtet diese als Ausdruck eines bei Cyanophyceen häufig auftretenden Schraubenbaues. *Tolypothrix distorta* zeigt keine derartigen Windungen, ihr dürfte die schraubige Struktur fehlen.

Eine Gummischnur, die zwischen den Händen gespannt und schwach gedreht wird, bildet, wenn die Hände zur Entspannung des Gummis einander genähert werden, Rechts- oder Linkswindungen, je nachdem, wie die Gummischnur gedreht wurde. Dies möge das Verhalten eines Oscilla-

torienfadens in hypertonischem Medium veranschaulichen. Die Membran liegt ursprünglich im gespannten Zustand vor. Durch die äußere Überkonzentration wird der Zelle Wasser entzogen, der Turgor wird herabgesetzt oder verschwindet gänzlich, und die Zellwand erfährt eine Entspannung. Da *Oscillatoria limosa* rechtsdrehend ist, schnurrt sie in Rechtswindungen zusammen (Abb. 1 b).

Nicht alle *Oscillatoria limosa*-Fäden bilden derartige Windungen. Hingegen allgemein zu beobachten ist die starke Längsschrumpfung, die auch durch die Entquellung des Plasmas mit der daraus folgenden Entspannung verursacht wird (Abb. 2). Besonders deutlich ist die Verkürzung an bescheidenen Cyanophyceen, wie z. B. an *Tolypothrix distorta* zu beobachten,

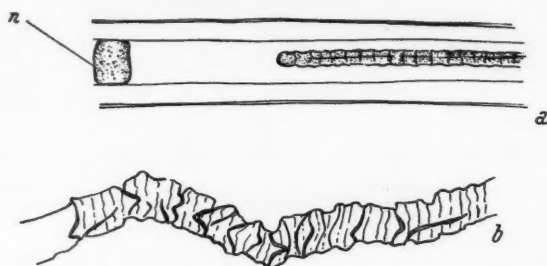


Abb. 3. a *Tolypothrix distorta* in 2,0 mol Traubenzucker (n = Nekride).
b *Oscillatoria limosa* in 1,0 mol Traubenzucker.

da die Scheiden streckenweise als leere Röhren erscheinen, wenn sich der Algenfaden bei seiner Längsschrumpfung daraus zurückgezogen hat (Abb. 3 a).

Hand in Hand mit der Verkürzung geht meistens eine Verminderung der Zellbreite, wiederum besonders gut sichtbar an *Tolypothrix distorta*, da die Scheide ihren ursprünglichen Durchmesser beibehält (Abb. 10 b).

Die Krümmung beginnt sofort nach dem Zutritt des hypertonischen Mediums und währt, vor allem in Form der Windungen bei *Oscillatorien*, nur wenige Sekunden, weil dann die allseitig eintretenden Cytorrhysen und die „negative Wandspannung“ (Drawert 1948) den Fäden wieder ein anderes Gepräge geben (Abb. 1 c; Abb. 4 a). Die Spannung der Zellwände erreicht in diesem Stadium wohl nicht ihr anfängliches, vom Turgor bewirktes Ausmaß — die Fäden lassen sich in diesem Zustand beliebig abbiegen, was auf geringe Spannung hinweist (Abb. 6 a) —, sie muß aber vorhanden sein, weil die Membranen stellenweise eingedellt sind. Dies kann einerseits darauf beruhen, daß die Membran am schrumpfenden Plasma haftet oder es kann, was wahrscheinlicher ist, durch die Schwerdurchlässigkeit der Wände verursacht sein.

Schon kurz nach dem Durchsaugen einer hypertonischen Trauben- oder Rohrzuckerlösung — es kamen 0,3 bis 1,0 molare Lösungen zur Verwendung — zeigen die Fäden von *Oscillatoria limosa* und von *Tolypothrix* Cytorrhysen (Zerknitterung), wie es Abb. 4 a und Abb. 3 b darstellt. Im

Gegensatz dazu sind in CaCl_2 (Abb. 10 b) nur schwache Ansätze einer Cytorrhysse wahrnehmbar, und in Harnstoff, Glycerin und Seewasser unterbleibt bei allen angewendeten Konzentrationen die Zerknitterung der Fäden überhaupt. Es ist naheliegend, daß die Cytorrhysse um so schwächer ist und um so kürzere Zeit anhält, je höher die Permeabilität der Membran für ein Plasmolytikum ist (vgl. Protokoll A, S. 276).

Eine besondere Form der Zerknitterung stellen die an *Oscillatoria limosa* und *Tolypothrix distorta* beobachteten Cytorrhyssefalten dar (Abb. 6). Bei *Oscillatoria limosa* sind diese Falten, entsprechend dem schraubigen Fadenbau, schraubig angeordnet (Abb. 6 a), bei *Tolypothrix* liegen sie dagegen parallel zur Fadenlängsachse.

Die Entstehung solcher Cytorrhyssefalten muß man sich wohl so vorstellen, daß die Eindellungen von Membran und Plasma in aufeinanderfolgenden Zellen eines Fadens kontinuierlich aneinandergereiht sind. Es entsteht daher eine zusammenhängende Falte. Im weiteren Verlauf — die gelösten Teilchen des Plasmolytikums passieren dann anscheinend die Zellwand — löst sich die Membran vom kontrahierten Protoplasten genau entlang der Cytorrhyssefalten. Nun werden an Stelle der Cytorrhysen konkave Plasmolysen sichtbar. Kuchar (1949) nimmt an, daß bei *Oscillatorien* auch

die positiven Plasmolyseorte schraubig angeordnet seien. Dies würde die schraubige Anlage der Cytorrhyssefalten bei *Oscillatoria limosa* bzw. die

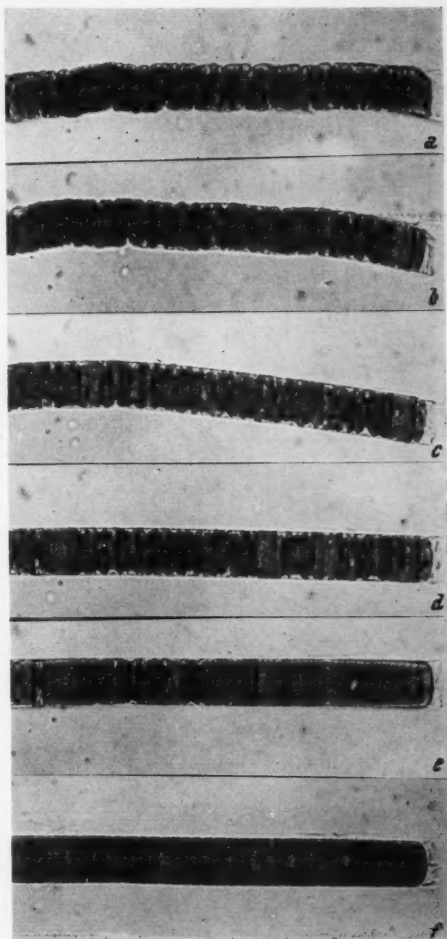


Abb. 4. *Oscillatoria limosa*, 576mal, Ölimmersion. a kurz nach dem Durchsaugen von 0,4 mol Traubenzucker, b einige Minuten später, c ca. 10 Minuten später, d 15 Minuten später, e 30 Minuten später, f ca. 50 Minuten nach dem Durchsaugen.

hier beobachtete schraubige Plasmolysefolge in den aufeinanderfolgenden Zellen verständlich machen.

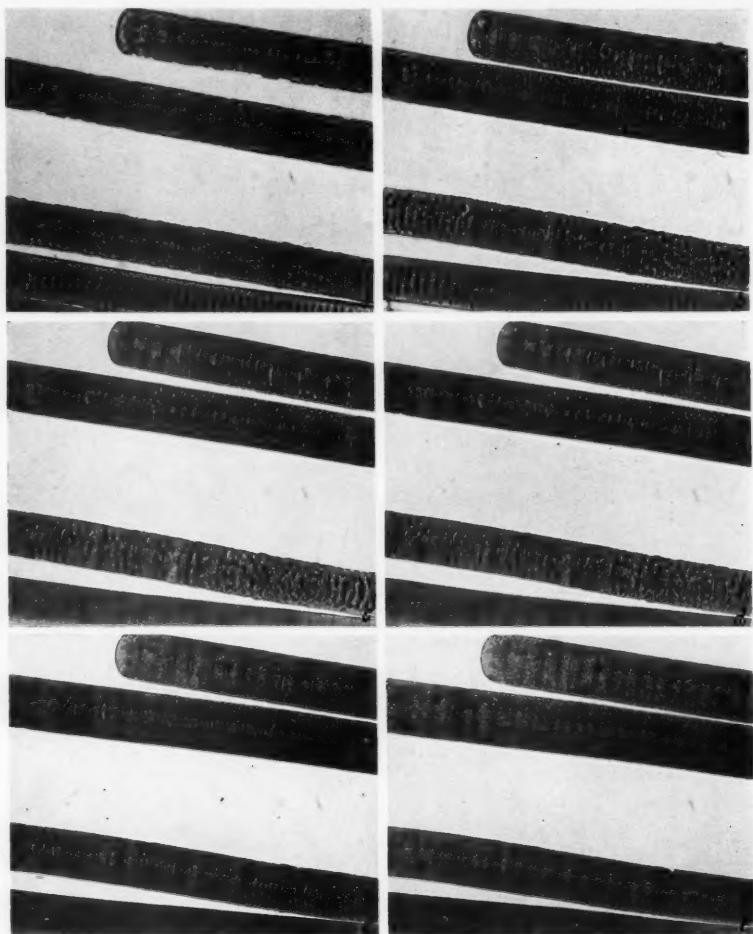


Abb. 5. *Oscillatoria limosa*, Ölimmersion. a 4 bis 5 Sekunden nach dem Durchsaugen von 0,3 mol CaCl_2 , b 1 Minute später, c 3 Minuten später, d 5 Minuten später, e 10 Minuten später, f 15 Minuten später.

In den Fäden von *Rivularia haematites* zerknittern nur die apikalen Fadenteile, die plasmareichen Zellen des Basalteiles, die schon nach Küsters Angabe (1929) Plasmolyse vermissen lassen, zeigen keine Cytorrhysen.

Mit dem Plasmolyseeintritt erfolgt gleichzeitig eine Streckung des Blau-

algenfadens. Die Zellmembranen lösen sich vom Protoplasma und zwischen Zellwand und Protoplasten tritt an den Stellen der Abhebung das Plasmolytikum. In Traubenzucker und Rohrzucker geht der Plasmolyse von



Abb. 6. *Oscillatoria limosa*, 360mal. a sofort nach dem Durchsaugen von 0,4 mol Traubenzucker. b derselbe Faden ca. 8 Minuten später.

Oscillatoria limosa und *Tolypothrix distorta* eine Cytorrhise voraus, während in CaCl_2 , Seewasser und Harnstoff — verwendet wurden Konzentrationen bis zu 4,0 mol — die plasmolytischen Abhebungen ohne vorangehende Cytorrhise sichtbar werden. Daraus geht wohl hervor, daß die Eindellung der Membran bei der Cytorrhise nicht ausschließlich passiv durch die Adhäsion am Protoplasma erfolgt, sondern hauptsächlich durch die Schwerdurchlässigkeit für ein Plasmolytikum bedingt wird.

Die Abhebungen des Protoplasmas in Rohrzucker und Traubenzucker beschränken sich bei den untersuchten Objekten häufig auf Ecken und Längswände (Abb. 4 b–d). *Tolypothrix distorta* zeigt in 0,25 mol Traubenzucker nur schwache Ablösungen von den Ecken (Abb. 7 a) und bietet in

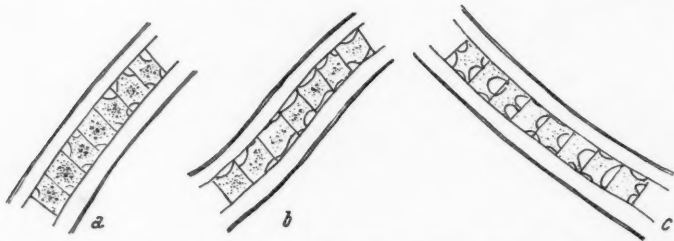


Abb. 7. *Tolypothrix distorta* in a 0,25 mol Traubenzucker, b 0,5 mol Traubenzucker, c 1,0 mol Traubenzucker.

diesem Zustand das typische Bild der Grenzplasmolyse bei Cyanophyceen. In 0,5 mol Traubenzucker zieht sich das Plasma stellenweise auch von der Längsmembran zurück (Abb. 7 b). Erst bei stärkerer Plasmolyse in 1,0 mol Traubenzucker konnten zusätzlich kleine Plasmolysepalten an den Quer-

wänden beobachtet werden (Abb. 7 c). *Oscillatoria limosa* verhält sich ähnlich.

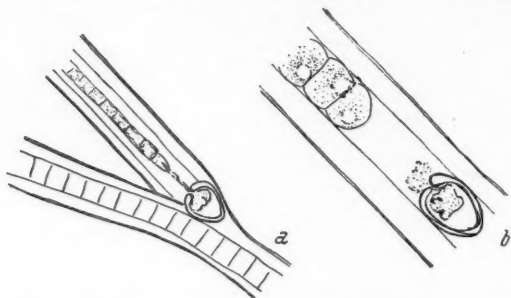


Abb. 8. *Tolypothrix distorta* in 1,0 mol Traubenzucker.

stärker von den Längswänden abgelöst. In 1,0 mol Traubenzucker schließlich zieht sich der Protoplast stellenweise auch von den Querwänden zurück.

Wie immer wieder beobachtet werden konnte, scheinen schwerer permeierende Plasmolytika (verwendet wurden Rohrzucker und Traubenzucker) den Protoplasten zuerst von den Längswänden zu trennen, während leicht permeierende Salze (zur Verwendung kamen CaCl_2 und Seewasser) zuerst an den Querwänden konkave Plasmolyseabhebungen bewirken (vgl. Prát 1925). Vielfach deltten sich die Protoplasten von *Oscillatoria limosa* und von *Tolypothrix distorta* in den gebotenen CaCl_2 -Konzentrationen und in 100% Seewasser an den Querwänden stark ein. Dies ist z. B. in Abb. 5 b–d, besonders aber in Abb. 11 b ersichtlich.

Interessanterweise gelingt es zwar, das gänzliche Zurückweichen des Protoplasten von den Längsmembranen zu erzielen, dies wurde z. B. an *Oscillatoria limosa* in 1,0 mol Traubenzucker und an *Tolypothrix distorta* in 0,3 mol CaCl_2 erreicht, kein Versuchsobjekt aber zeigte in den verwendeten Lösungen das völlige Freiwerden des Protoplasten von einer Querwand. Stets blieb der plasmolysierte Protoplast von *Tolypothrix* — dieses Objekt wurde besonders daraufhin untersucht — an zwei Punkten mit der

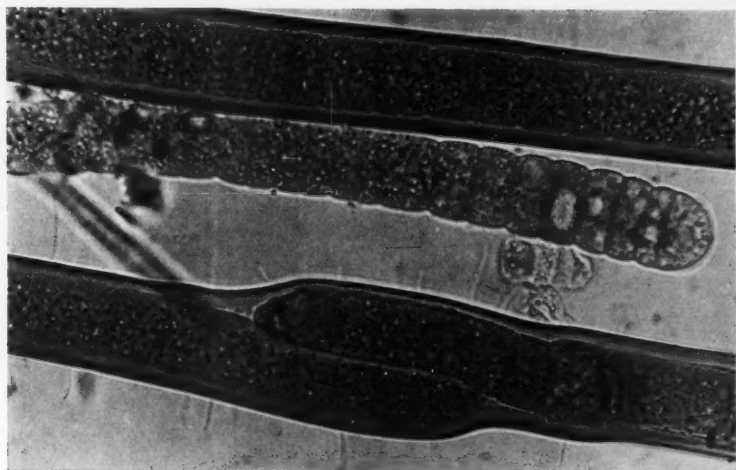


Abb. 9. *Tolypothrix distorta*, 800mal, Ölimmersion; normale Fäden, Vakuolen in den Endzellen.

Querwand in Berührung. Im Falle der Plasmaablösung in zwei benachbarten Zellen von der gemeinsamen Querwand korrespondierten die negativen Plasmolyseorte. Nie standen also den negativen Plasmolyseorten einer Zelle positive Plasmolyseorte der Nachbarzelle gegenüber, vielmehr haftete in allen beobachteten Fällen das Plasma zweier benachbarter Zellen an derselben Stelle beiderseits der Querwand, sei es in breiter Front oder in Plasmafortsätzen (Abb. 11 b). In der an die Heterocyste von *Tolypothrix* angrenzenden Zelle tritt immer nur ein Protoplasmafortsatz auf (Abb. 8 a), der genau zum Heterocystentüpfel führt. Da die Heterocyste in der Scheide beim Einwirken wasserentziehender Mittel ihren Ort behält, der Faden aber schrumpft, wird dieser Plasmastrang häufig beträchtlich in die Länge gezogen und reißt auch nicht selten (Abb. 8 b). In diesen Fällen trat dann bei Deplasmolyse und Rückdehnung das Fadenende nicht mehr ganz an die Heterocyste heran.

Ob die beobachteten Erscheinungen mit dem Vorhandensein von Plasmodesmen zwischen den einzelnen Zellen in Zusammenhang zu bringen sind,

soll hier nicht entschieden werden. Geitler (1930, 1936) hält ihre Existenz bei Cyanophyceen für wahrscheinlich¹.

Die Plasmolyse der Cyanophyceen dürfte in den meisten Fällen übereinstimmend mit Küsters Vermutung (Schönleber 1936) auf eine Entquellung des Plasmas zurückzuführen sein, da der Zellsaftraum fehlt. Treten aber Vakuolen an Blaualgen auf, so sind diese wohl als Degenerationserscheinung aufzufassen (Geitler 1930, 1936). Ältere Fäden von Scytonemataceen und die Haarenden von Rivulariaceen weisen häufig derartige Vakuolen auf. Prát (1925) beschreibt Vakuolenbildung bei *Tolypothrix*. Er beobachtet deren Schrumpfung im hypertonischen Medium

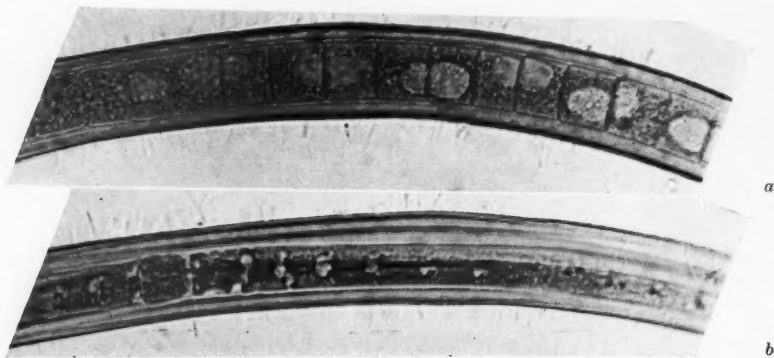


Abb. 10. *Tolypothrix distorta*, 800mal Ölimmersion. a Faden im Normalzustand, b derselbe Faden nach dem Durchsaugen von 0,4 mol Traubenzucker.

und ihre Wiederausdehnung bei der Deplasmolyse und sieht darin den Beweis, daß es sich um „wirkliche Vakuolen mit flüssigem Inhalt“ handle. Abb. 10 b zeigt einen *Tolypothrix*-Faden nach dem Durchsaugen von 0,4 mol Traubenzucker mit derartig geschrumpften Vakuolen. Eine konvexe Abkuglung des Protoplasten wurde trotz der Anwesenheit von Zellsaft-räumen in vielen Zellen von *Tolypothrix* nie festgestellt (vgl. Prát 1925). Die Wiederausdehnung der Vakuolen nach erfolgter Deplasmolyse ist in Abb. 11 c festgehalten. Der darauf abgebildete *Tolypothrix*-Faden wurde in 0,3 mol CaCl_2 plasmolysiert und dann in Standortswasser deplasmolysiert. Die Vakuolen haben sich dabei wieder auf ihr ursprüngliches Ausmaß vergrößert. In Traubenzucker erfolgt die Wiederausdehnung der Vakuolen bei der Deplasmolyse in gleicher Weise.

Nach der konkaven Cyanophyceen-Plasmolyse kommt es in vielen hypertonischen Medien zu einer relativ rasch eintretenden Deplasmolyse. Dies hat schon Fischer (1897) beobachtet, und Brand (1903) bestätigt es für *Phormidium* in KNO_3 und 20% Glycerin. Besonders intensiv befaßt

¹ H. Drawert und I. Metzner (1956) haben jüngst — nach Abschluß meiner Versuche — an Oscillatorien, die mit Chromsäure vorbehandelt wurden, Querwandporen elektronenmikroskopisch nachgewiesen.

sich Prát (1920, 1921 und 1925) mit der Frage des Plasmolyserückganges bei Cyanophyceen. Er hält Quellung und Permeabilität der Zelle für die Faktoren, die den Zeitpunkt des Deplasmolyseeintrittes bestimmen. Schönleber (1936, 1937) erzielt in ihren *Scytonema*-Versuchen raschen Plasmolyserückgang mit KNO_3 , während eine hypertonische Rohrzuckerlösung die Plasmolyse tagelang erhält.

Über den Plasmolyserückgang im hypertonischen Medium kann im Rahmen dieser Arbeit nur Orientierendes ausgesagt werden, da bei der

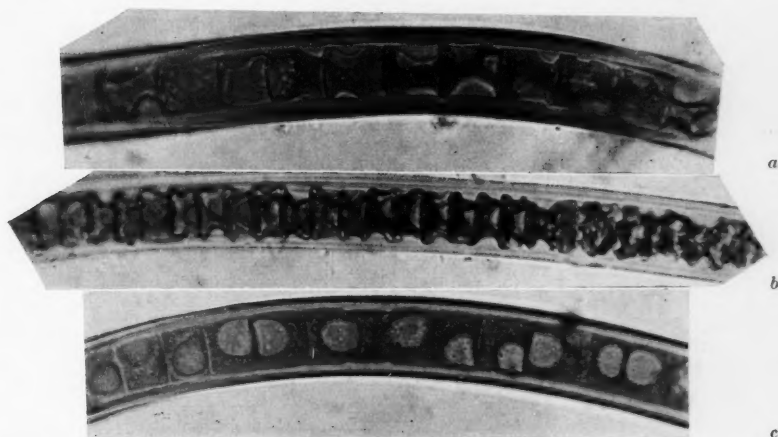


Abb. 11. *Tolypothrix distorta*, 800mal, Ölimmersion. a Faden ca. 2 Minuten nach dem Durchsaugen von 0,3 mol CaCl_2 , b ein Faden, ca. 12 Minuten nach dem Einlegen in 0,3 mol CaCl_2 , c ein Faden, der 30 Minuten in 0,3 mol CaCl_2 lag und dann in Standortswasser deplasmolysiert wurde.

Mehrzahl der Versuche die Deplasmolyse durch Überführung der Fäden in hypotonische Lösungen erreicht wurde. Es sollen nur einige bemerkenswerte Beobachtungen festgehalten werden.

Erstaunlicherweise wurde ein Teil der Oscillatorien in 0,4 und 0,5 mol Traubenzucker schon innerhalb einer Stunde deplasmolysiert (Abb. 4 e) und auch in 1,0 molarer Glukoselösung ließen sich teilweise schon nach $1\frac{1}{2}$ Stunden Deplasmolysen erkennen. Ebenso konnte in einer Rohrzuckerkonzentration von 1,0 mol nach ca. 2 Stunden in vielen Trichomen Rückdehnung des Protoplasten beobachtet werden. Diese Angaben gelten aber nur für einen Teil der untersuchten *Oscillatoria*-Fäden. Der übrige Teil des Materials wies nach vielen Stunden noch Plasmolysebilder auf (vgl. Drawert 1948).

In CaCl_2 ging die Deplasmolyse in allen Trichomen viel schneller vor sich, es trat aber auch hier das wenig übereinstimmende Verhalten der einzelnen Fäden zutage, wie es Abb. 5 zeigt. Der unterste Faden läßt in Abb. 5 b schon beginnende Deplasmolyse erkennen, zu einer Zeit, da die Plasmolyse in den übrigen Fäden erst ihren Höhepunkt erreicht. Drei Mi-

nuten nach dem Durchsaugen des Plasmolytikums ist dieser Faden völlig deplasmolysiert, während der Plasmolyserückgang in den meisten anderen Fäden einen Zeitraum von 10 bis 15 Minuten beansprucht. Noch weitaus rascher, nämlich so schnell, daß man sie kaum wahrnehmen kann, erfolgt die Deplasmolyse in Harnstoff und Glyzerin.

Tolypothrix distorta verharrete länger im plasmolysierten Zustand. In 0,5 mol Rohrzucker waren hier noch nach 2 Tagen plasmolysierte Fäden zu finden, und selbst in CaCl_2 -Konzentrationen von 0,2 bis 0,5 mol benötigen die Protoplasten für die Rückdehnung einen Zeitraum von ungefähr 1 Stunde. Harnstoff und Glyzerin hingegen bewirken auch bei *Tolypothrix* augenblicklichen Plasmolyserückgang.

Schließlich sei noch einer häufig gemachten Beobachtung Erwähnung getan. Zwischen plasmolysierten Fäden und normalen, unplasmolysierten Trichomen war der große Lichtbrechungsunterschied sehr auffallend. Die plasmolysierten Fäden zeigten sich stärker lichtbrechend als die unplasmolysierten.

Protokoll A

Versuchsobjekt: *Oscillatoria limosa*, Durchsaugen einer 1,0 molaren Rohrzuckerlösung.

- | | |
|------------------------|--|
| Nach einigen Sekunden: | Die Fäden schnurren zusammen, sie liegen vielfach gewunden und gekrümmt im Präparat. |
| Nach 2 Minuten: | Die Trichome sehen zerknittert aus. |
| Nach 15 Minuten: | Langsam einsetzende Streckung, gleichzeitig werden an den Ecken plasmolytische Abhebungen sichtbar. |
| Nach 30 Minuten: | Die Fäden haben sich noch weiterhin gestreckt. Es sind deutliche Plasmolyseabhebungen an den Längs- und Querwänden zu sehen. |
| Nach 60 Minuten: | Anhalten der Plasmolyse. |
| Nach 1½ Stunden: | In einigen Fäden ist die Plasmolyse zurückgegangen, in anderen Trichomen hält die Plasmolyse unverändert an. |
| Nach 2 Stunden: | Das Präparat zeigt zu ungefähr gleichen Teilen plasmolyierte und unplasmolysierte Fäden. |
| Nach 15 Stunden: | Noch immer starke Konkavplasmolyse an vielen Fäden. |

Versuchsobjekt: *Oscillatoria limosa*, Durchsaugen von 0,5 mol Rohrzucker.

- | | |
|------------------------|---|
| Nach wenigen Sekunden: | Die Fäden krümmen und winden sich. |
| Nach ca. ½ Minute: | Die Trichome gewinnen ein zerknittertes Aussehen. |
| Nach 12 Minuten: | Streckung der Fäden, Auftreten von Konkavplasmolysen, Abhebungen von den Ecken. |

Nach 60 Minuten: In einigen Zellen erfolgt bereits Deplasmolyse, in den meisten Zellen hält die Plasmolyse an.

Nach 14 Stunden: Ca. drei Viertel der Fäden sind völlig deplasmolysiert. Ein Drittel der Trichome zeigt starke Konkavplasmolyse mit Abhebungen von Längs- und Querwänden.

Versuchsobjekt: *Oscillatoria limosa*, Durchsaugen von 1,0 mol Traubenzucker.

Nach 1 bis 2 Sekunden: Die Fäden krümmen sich wurmartig.

Nach 1 Minute: Die Fäden liegen zerknittert und vielfach geknickt im Präparat. Zum Teil zeigen sie viele Fältchen.

Nach 5 Minuten: Die Fäden dehnen sich wieder, es werden in den Ecken der Zellen Loslösungen des Protoplasten sichtbar.

Nach 30 Minuten: In allen plasmolysierten Zellen sind Abhebungen von den Längswänden, vielfach auch Plasmolysespalten an den Querwänden zu beobachten.

Nach 1½ Stunden: In vielen Zellen ist schon Deplasmolyse eingetreten. Andere Zellen zeigen noch Bilder relativ starker Plasmolyse.

Versuchsobjekt: *Oscillatoria limosa*, Durchsaugen von 100% Seewasser.

Nach 1 bis 2 Sekunden: Starke Längsschrumpfung der Fäden.

Nach 4 Minuten: Rückdehnung der Fäden.

Nach 5 Minuten: Auftreten starker Brückenplasmolysen.

Nach 6 Minuten: Plasmolyse-Rückgang hat schon in vielen Zellen stattgefunden.

Nach 10 Minuten: Die Fäden zeigen ein völlig normales Aussehen, die Plasmolyse ist allgemein schon zurückgegangen.

3. Die Reversibilität der Plasmolyse

Drawert (1948) erkennt, wie ehemals schon Hansgirg (1883) an totem Herbarmaterial beobachtet hat, daß tote Blaualgenzellen bei Benetzung mit Wasser augenblicklich ihre volle Turgeszenz zurückgewinnen und bezeichnet den hypothetischen Stoff, der die Quellung bedingen soll, als „Quellsubstanz“. Auch der tote Cyanophyceenfaden ist also befähigt, den „Turgor“ seiner Zellen zu erhalten bzw. ihn wieder herzustellen. Das „normale“ Aussehen eines deplasmolysierten Fadens ist daher kein beweiskräftiger Anzeiger für die Vitalität eines Trichoms. Freilich ist das Absterben des Protoplasten aus seiner veränderten Färbung, Struktur und an Lichtbrechungsunterschieden gegenüber dem lebenden Plasma ersichtlich. Dies sind aber wenig verlässliche Merkmale, die nicht immer eindeutig zu erkennen sind.

Drawert selbst gelangt ja, wie schon einleitend erwähnt wurde, auf Grund seiner Versuche mit *Oscillatoria Borneti* zu der Ansicht, daß die Plasmolyse die Zellen letal schädige. Er spricht von einem festen Verband zwischen Membran und Plasma, der im Falle der „Scheinplasmolyse“ zerrissen wird. Da aber in leicht permeierenden Salzen die konkaven Abhebungen des Protoplasten ohne vorhergehende Eindellungen der Membran gebildet werden, wird offensichtlich der Trennung von Membran und Plasma nicht der vermutete starke Widerstand entgegengesetzt, und die Hauptursache der von Rohr- und Traubenzucker hervorgerufenen Cytorrhysen dürfte in der beschränkten Zellwandpermeabilität zu suchen sein. Daneben ist sicherlich auch das Plasma durch großes Haftvermögen gekennzeichnet, denn dies findet seinen Ausdruck im Fehlen von konvexen Abrundungen in hypertonischen Medien. Ähnliche Verhältnisse sind auch von den Rotalgen bekannt (Höfler 1944, 1956), bei denen vom Fehlen der Kugelrundung bei der Plasmolyse ebenfalls auf hohe Adhäsion geschlossen wird (Höfler 1950).

Ob die Ablösung des Protoplasten im wasserentziehenden Medium durch ein osmotisches System oder durch einen Quellungsmechanismus bedingt wird, ist letzten Endes nicht entscheidend, vielmehr steht und fällt die Cyanophyceen-Plasmolyse mit der Frage, ob der Protoplast, nachdem er sich von der Membran getrennt hat, noch lebt oder ob er dabei letal geschädigt wurde.

Es bedarf also einer Lebensäußerung des plasmolysierten Protoplasten, um die Möglichkeit einer Cyanophyceen-Plasmolyse beweisen zu können. Hier lag nun nichts näher, als zu überprüfen, ob ehemals plasmolysierte Oscillatorien nach eingetretener Deplasmolyse wieder die Fähigkeit hätten zu kriechen.

Wie aus Protokoll B ersichtlich ist, gewannen die Oscillatorien innerhalb gewisser Konzentrationsgrenzen der angewendeten Traubenzuckerlösungen das Bewegungsvermögen zurück.

Am Beginn jedes Versuches galt es zunächst, den Plasmolyseeintritt zu kontrollieren. Ein Präparat kam nämlich nur dann für den Versuch in Frage, wenn bei ca. 90% der Trichome in der Mehrzahl der Zellen tatsächlich Plasmolysen zu beobachten waren. Um bei der Deplasmolyse so schonend als möglich vorzugehen, wurden die Fäden vielfach stufenweise in immer weniger konzentrierte Lösungen gebracht, um schließlich in Standortwasser beobachtet zu werden.

Die höchste Traubenzuckerkonzentration, bei der noch Bewegungswiederkehr erzielt werden konnte, lag bei 0,45 mol. In dieser Lösung plasmolysierte Fäden zeigten allerdings erst 14 Tage nach der Deplasmolyse erneutes Kriechen. In geringer konzentrierten Medien von 0,20 bis 0,26 mol Traubenzucker kam die Kriechbewegung schon 20 bis 30 Minuten nach der Plasmolyserückdehnung wieder zustande, und 2 bis 3 Tage dauerte es, bis die Bewegung der Fäden wiedereinsetzte, die in 0,3 mol Glukose plasmolysiert worden waren.

Einer weiteren Untersuchung wäre es wert, die Plasmolyseresistenz und die Schädlichkeit bestimmter Plasmolytika für die Blaualgenzelle zu prüfen, da anscheinend die Plasmolyse von Cyanophyceen nur unter begrenzten, optimalen Bedingungen ertragen wird.

Protokoll B

Versuchsobjekt: *Oscillatoria limosa*,

Durchsaugen von 0,24 mol Traubenzucker, Plasmolyse positiv.

Nach 10 Minuten: Durchsaugen von Standortswasser, sofort Deplasmolyse.

Nach 25 Minuten: Bewegung positiv.

Durchsaugen von 0,26 mol Traubenzucker, Plasmolyse positiv.

Nach 10 Minuten: Durchsaugen von Standortswasser, sofort Deplasmolyse.

Nach 20 Minuten: Bewegung positiv.

Durchsaugen von 0,28 mol Traubenzucker, Plasmolyse überall positiv.

Nach 10 Minuten: Durchsaugen von Standortswasser, die Algen kommen in ein Fläschchen mit Standortswasser.

Nach 37 Stunden: Die Fäden zeigen wieder Kriechbewegung und kriechen auch schon an der Innenwand des Fläschchens.

Einlegen in 0,3 mol Traubenzucker, Plasmolyse positiv.

Nach 10 Minuten: Standortswasser wird durchgesaugt. Sogleich Eintreten der Plasmolyserückdehnung.

Nach 36 Stunden: Bewegung ist wieder vorhanden, die Fäden kriechen sehr lebhaft.

Durchsaugen von 0,35 mol Traubenzucker, positive Plasmolyse.

Nach 10 Minuten: Die Algen werden über stufenweise abnehmende Traubenzuckerkonzentrationen in Standortswasser gebracht und hier untersucht: überall Deplasmolyse.

Nach 14 Tagen: Bewegungsrückkehr an allen Fäden.

Durchsaugen von 0,40 mol Traubenzucker, starke Plasmolyse.

Nach 10 Minuten: Die Algen werden wie oben über abnehmende Traubenzuckerkonzentrationen ins Standortswasser überführt und untersucht: überall Plasmolyserückgang.

Nach 14 Tagen: Alle Fäden kriechen wieder.

Durchsaugen von 0,45 mol Traubenzucker, starke Plasmolyse.

Nach 10 Minuten: Die Algenflocke kommt stufenweise über geringer konzentrierte Traubenzuckerlösungen ins Standortswasser und wird hier präpariert: Deplasmolyse.

Nach 14 Tagen: Die Fäden kriechen wieder lebhaft.

Durchsaugen von 0,50 mol Traubenzucker, starke Plasmolyse.

Nach 10 Minuten: Die Algen werden wie oben über stufenweise abnehmende Traubenzuckerkonzentrationen in Standortswasser gebracht. Hier zeigen sie sofort Deplasmolyse.

Innerhalb des folgenden Monats: Bewegung kehrt nicht wieder.

4. Grenzwerte für Plasmolyse und Bewegung

Die Bestimmung des osmotischen Wertes auf grenzplasmolytischem Wege stößt bei den Blaualgen auf erhebliche Schwierigkeiten. Zum Teil wurde dies schon einleitend erörtert. Es ist daher durchaus verständlich, wenn die verschiedenen Autoren sich der mannigfaltigsten Methoden zur Bestimmung des osmotischen Wertes bedienen. Aus mehrfachen Gründen muß die grenzplasmolytische Methode überhaupt fraglich erscheinen. So hat schon Höfler (1918) auf eine wichtige Fehlerquelle dieser Arbeitsweise hingewiesen, die besonders bei den Blaualgen verzerrte Resultate verursachen dürfte. Diese Fehlerquelle beruht darauf, daß vielfach die Adhäsion des Protoplasmas an der Zellwand den ersten Eintritt der Plasmolyse verhindert. Es scheint daher ein osmotischer Überdruck von seiten der Auflöserlösung zur Überwindung dieser entgegenwirkenden Kräfte nötig zu sein. Auch ist zu beachten, daß die aus der grenzplasmolytischen Methode gewonnenen Resultate erst recht fragwürdig werden, wenn die plasmolytische Kontraktion bei den Cyanophyceen auf Entquellung des Plasmas beruht.

Um eventuelle Ungenauigkeiten in der Terminologie zu vermeiden, soll in dieser Arbeit nur von Plasmolysegrenzen und Grenzkonzentrationen die Rede sein, nicht aber von Grenzplasmolysen, die bei den höheren Pflanzen in der üblichen Weise zur Bestimmung des osmotischen Wertes herangezogen werden.

Als plasmolytische Grenze wurde die Konzentration einer Lösung festgesetzt, die mindestens in der Hälfte der Fäden schwächste Abhebungen des Protoplasmas von der Membran bewirkt. Die nächst tiefere Konzentration darf nur mehr in einem ganz geringen Teil der Trichome Ablösungen bewirken oder soll überhaupt keine plasmolytischen Veränderungen mehr hervorrufen. Diese Grenzkonzentration ergab sich für *Tolypothrix distorta* in Traubenzucker und Rohrzucker bei 0,26 mol. CaCl_2 erfüllte schon bei einer Konzentration von 0,09 mol die genannten Bedingungen. Bei Versuchen mit ansteigenden Harnstoffkonzentrationen wurde erstmalig

in 0,45 mol schwache, konkave Plasmolyse festgestellt, die allerdings im Augenblick wieder verschwand.

Vergleicht man die Plasmolysegrenzen von *Oscillatoria limosa* mit den jeweils entsprechenden Werten der Bewegungsgrenzen, so liegt die Konzentration, bei der die Fäden ihre Bewegung einstellen, stets etwas unter der, die an den Zellen gerade noch Plasmolyse bewirken. Der Plasmolysegrenze von 0,19 mol Rohr- oder Traubenzucker steht bei *Oscillatoria limosa* eine Bewegungsgrenze von 0,15 mol Rohrzucker und 0,17 mol Traubenzucker gegenüber. Der plasmolytische Grenzwert in CaCl_2 liegt auch bei *Oscillatoria limosa* sehr tief (0,06 bis 0,07 mol). Bewegungsstillstand führt schon 0,05 molares CaCl_2 herbei. In Harnstoff hingegen kriechen die Fäden noch bei einer Konzentration von 0,45 mol. Plasmolyse konnte erst in über 0,5 molaren Harnstofflösungen wahrgenommen werden.

Die geringe Differenz zwischen Plasmolysegrenzwerten und Bewegungsgrenzwerten läßt die physiologische Bedeutung dieser Werte erkennen.

II. Osmotisches Verhalten, Plasmolyseresistenz und Permeabilität einer *Oscillatoria* aus der Lagune von Venedig

1. Versuchsmaterial und Methodik

Als weiteres Versuchsobjekt diente eine *Oscillatoria* aus dem Lagunen-gebiet von Venedig². Es war interessant, den Beobachtungen an Blaualgen des Süßwassers nun solche an einem Vertreter des Brackwassers gegenüberzustellen. Dies um so mehr, da die untersuchten Süßwassercyanophyceen anscheinend nur über geringe Plasmolyseresistenz verfügen und die plasmolytische Abhebung nur zwischen engen Konzentrationsgrenzen vital zu verlaufen scheint. Wie wird nun demgegenüber eine *Oscillatoria* des Brackwassers, die den natürlichen Konzentrationsschwankungen standhält, auf den raschen Konzentrationswechsel reagieren?

Die Bestimmung der genannten *Oscillatoria* gestaltete sich ziemlich schwierig³. Da sie zu keinem sicheren Ergebnis führte, sei anschließend eine genaue Beschreibung des Versuchsobjektes angefügt.

Beschreibung des Versuchsobjektes

Die Zelllänge der untersuchten *Oscillatoria* beträgt höchstens ein Drittel der Zellbreite. Die Breite der Trichome schwankt zwischen 6 und 10 μ . Die Trichome sind an den Enden deutlich verjüngt und schwach hakig abgebogen. Einschnürungen an den nur schwer sichtbaren Querwänden sind

² Mein herzlichster Dank gilt Prof. Dr. K. Höfler, der diese *Oscillatoria* am 5. April 1955 im Rahmen einer Venedig-Exkursion gesammelt und mir zur Verfügung gestellt hat. Der Fundort lag nahe am Ufer der gleichen Barene, auf der *Napicula ostrearia* gesammelt wurde (vgl. Höfler, *Url, Diskus* 1956, S. 73).

³ Frau Doz. Dr. Woess sei an dieser Stelle für ihre Mithilfe bei der Bestimmung bestens gedankt. Die Bestimmung erfolgte nach L. Geitler, *Cyanophyceae*, in Rabenhorsts Kryptogamenflora 1932.

kaum zu bemerken. Die Membran der breit abgerundeten Endzellen weist keine Verdickung auf. Vergleiche hiezu Abb. 12 a.

Die Farbe des Lagers war infolge der innigen Vermengung der Oscillatorien mit anderen Algen, besonders mit Diatomeen und einer *Microcoleus*-Art, nicht festzustellen. Die Trichome sind jedenfalls blaugrün gefärbt. In Tusche läßt sich eine zarte Schleimhülle, vor allem an den Fadenenden, nachweisen.

Die Bestimmung führte zunächst auf *Oscillatoria curviceps*. Die Trichombreite von *Oscillatoria curviceps* wird aber mit 10–17 μ angegeben. Unser schmäleres Versuchsobjekt könnte also höchstens der Variation „angusta“ angehören. Diese ist aber laut Bestimmungsbuch wahrscheinlich gar nicht zur *Oscillatoria curviceps* zu rechnen. Auch die Angaben über das Vorkommen von *Oscillatoria curviceps* deuten keineswegs darauf hin, daß unsere Alge dieser Art zugehöre, zumal sogar ein Hochmoorvorkommen verzeichnet ist. Ein weiteres Hochmoorvorkommen wird von Redinger (1934) für die Schlenken des Rotmooses beschrieben.

Weitere Versuche zur Bestimmung ließen vermuten, daß es sich bei der untersuchten Art um *Oscillatoria Annae* handle. Allerdings spricht dagegen wieder die starke Granulation der Zellen.

Infolge dieser Schwierigkeiten soll im Verlaufe dieser Arbeit vorläufig die Bezeichnung *Oscillatoria veneta ad int.* für das Versuchsobjekt geführt werden.

Standort

Oscillatoria veneta ad int. wurde auf einer Barene⁴ der nördlichen Lagune von Venedig gesammelt. Hier trat sie in einer flach wannenförmigen Einsenkung zwischen Flächen auf, die von *Statice* und *Arthrocnemum* bewachsen waren. Diese seichten Wannen bergen nach hoher Flut Seewasser, dessen Konzentration durch Verdunstung sehr erhöht werden kann, während starke Regenfälle Konzentrationsverringerung bewirken, ja sogar Aussüßung zur Folge haben können. Diese Konzentrationsschwankungen gehen Hand in Hand mit Temperaturveränderungen. Welch großem Wechsel ökologischer und physiologischer Bedingungen sind hier die Organismen ausgesetzt!

Versuchsmethode

Die Untersuchung von *Oscillatoria veneta ad int.* erfolgte vorwiegend in verschiedenen Konzentrationen des Seewassers. Diese wurden nach Eindampfung des normalen Seewassers (100%) auf die Hälfte (200%) in abgestuften Lösungen von 10% bis 200% hergestellt. Außerdem kam auch Seewasser in der drei- bis vierfachen Konzentration zur Anwendung (300%, 400%). Vergleichsweise wurden schließlich Versuche mit abgestuften NaCl- und Traubenzuckerlösungen durchgeführt.

⁴ Die Lagunen weisen vier Höhenstufen auf: 1. Inseln (werden normalerweise nie überflutet). 2. Barenen (werden nur bei starkem Hochwasserstand überschwemmt). 3. Secchen (liegen bei extremem Niedrigwasserstand trocken). 4. Kanäle (sind stets überflutet). Vgl. Soika, (1949, 1950), K. Höfler, W. Url, A. Diskus 1956 l.c.

In den meisten Fällen genügte es, die jeweils verwendeten Lösungen mit Hilfe von Filterpapierstreifen zwischen Objektträger und Deckglas durchzusaugen, in anderen Fällen erschien es zweckmäßig, die Oscillatorien in die Lösungen einzulegen. Bei Versuchen über eine längere Zeitspanne war es notwendig, die Präparate mit Paraffinöl einzuschließen, um die Verdunstung zu verhindern. Bei mehrtägigen Versuchen wurden die Algenproben, nachdem vorher von den einzelnen Algenflocken das Standortswasser (Stdw) mit Filterpapier abgesaugt worden war, in Fläschchen mit den jeweiligen Lösungen gegeben und daraus zu den Beobachtungen entnommen.

2. Die morphologischen Veränderungen beim osmotischen Eingriff

Die an Süßwassercyanophyceen beobachteten morphologischen Veränderungen in überkonzentrierten Lösungen finden sich größtenteils bei der Brackwasserform *Oscillatoria veneta ad int.* wieder. Auch sie be-

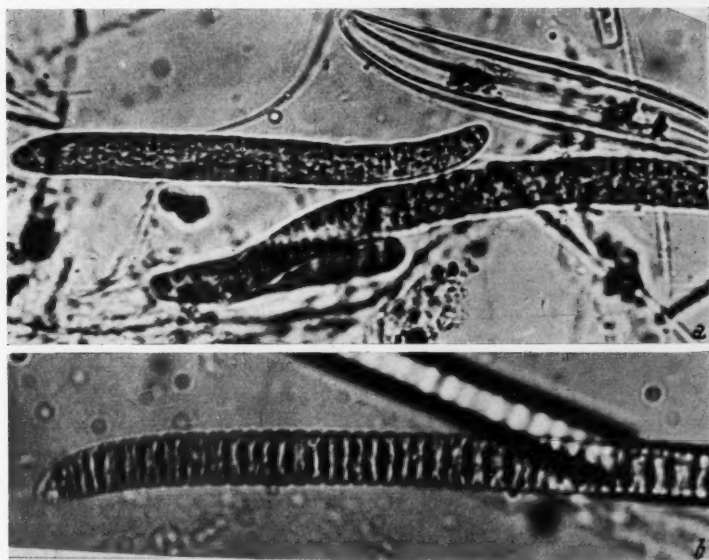


Abb. 12. *Oscillatoria veneta ad int.* a 880mal, Fäden im Normalzustand, b 1040mal, Fäden kurz nach dem Durchsaugen von 200% Seewasser.

antwortet das Einwirken eines hypertonischen Mediums mit einer allerdings geringeren Schrumpfung des Fadens. In NaCl und eingengtem Seewasser erfolgt gleichzeitig mit der binnen 1 bis 2 Minuten eintretenden Plasmolyse schon wieder die Streckungsphase. In Traubenzucker hingegen geht auch hier der Plasmolyse eine Cytorrhise voraus. Diese wird schon wenige Sekunden nach dem Durchsaugen der Zuckerlösung sichtbar.

Die Cytorrhysenfalten werden parallel zur Längsachse gebildet und erstrecken sich nur über wenige Zellen. Im Gegensatz zu *Oscillatoria limosa*, wo die Cytorrhysenfalten stets unter einem bestimmten Winkel zur Längsachse gebildet werden, liegen die einzelnen Falten hier parallel zur Längsachse des Fadens. Mehrere dieser Einzelfalten bilden aber häufig eine Spirale, so daß der Eindruck einer stufenweisen Anordnung entsteht.

Dieses Cytorrhysestadium wird dann von Plasmaabhebungen abgelöst (in 1,0 mol Traubenzucker nach 5 bis 10 Minuten), wobei hier ebenfalls örtliche Übereinstimmung zwischen Cytorrhysenfalten und den darauf folgenden Plasmolyseeindellungen beobachtet wurde.

Im plasmolysierten Zustand, in dem die Fäden stärker lichtbrechend erscheinen, ist die Granulation des Protoplasmas nicht sichtbar. Erst nach der Deplasmolyse der Zellen tritt die Granulierung wieder stark hervor (Deplasmolyse in 1,0 mol Traubenzucker nach etwa 2 Stunden, in 0,4 NaCl nach 18 bis 20 Minuten).

Die Plasmolysen in den Fäden von *Oscillatoria veneta ad int.* wurden anfänglich meist in den Zellen des Fadenendes festgestellt, wo sie auch am längsten anhalten. Häufig erscheint in Traubenzucker die Bildung von Brückenplasmolysen (vgl. Kuchar 1949), wieder vor allem an den Fadenenden. Die Ablösung des Plasmas erfolgt dann stets von der dem Fadenende zugewandten Querwand.

3. Plasmolyse und Bewegung

Oscillatorienversuche von Schmid (1923) und Prát (1925) haben ergeben, daß die Beweglichkeit dieser Organismen vom osmotischen Wert des umgebenden Mediums abhängig sei. Die beiden Autoren finden Bewegungsgrenzwerte von 10–12,5% Rohrzucker (Schmid) und 1% NaCl oder 13% Traubenzucker, das sind 8,2–10,5 Atm. (Prát). Diese Konzentrationen stimmen gut mit den von vielen Autoren durch verschiedene Methoden gewonnenen plasmolytischen Grenzwerten überein. Darauf wurde schon einleitend hingewiesen. Die im ersten Teil der Arbeit besprochenen Versuche mit *Oscillatoria limosa* ergaben eine Bewegungsgrenze, die um eine kleine Konzentrationsdifferenz unter der Plasmolysegrenze gelegen war.

Nach diesen Erfahrungen wäre für die untersuchte Brackwasserform *Oscillatoria veneta ad int.* die bewegungshemmende Konzentration unterhalb 160% Seewasser zu erwarten gewesen. In 160% Seewasser zeigen sich nämlich, wenn die Alge aus dem Standortwasser in die höher konzentrierte Lösung übertragen wird, schwache plasmolytische Ablösungen des Protoplasten von der Membran, während alle darunter gelegenen Einengungsgrade des Seewassers ohne plasmolytische Wirkungen auf die Oscillatorienfäden bleiben. Die Vermutungen über die Lage der Bewegungsgrenze wurden aber durch die Versuche an *Oscillatoria veneta ad int.* keineswegs bestätigt. Vielmehr behält diese Blaualge, wenn sie aus dem Standortwasser in verschieden stark eingeeengtes Seewasser gebracht wird, noch in doppeltkonzentriertem Seewasser ihr reges Kriechen bei (vgl. Tab. 1).

Ähnliches berichteten K. Höfler, W. Url und A. Diskus (1956) von

einer Peridinee aus dem venezianischen Lagunengebiet: *Oxyrrhis marina*, die ungeachtet der osmotischen Schrumpfung in hypertonischem Seewasser weiterschwärmt. Ebenso wurde von den obengenannten Autoren, sehr zu deren Erstaunen, an der blauen Diatomee *Navicula ostrearia* „bei einer mäßigen vitalen Plasmolyse, wie sie durch 0,5 mol Traubenzucker in Seewasser bewirkt wird“, an allen plasmolysierten Zellen noch lebhaftes Kriechen beobachtet.

Tab. 1. Plasmolytische Grenze und Bewegungsgrenze.

<i>Oscillatoria veneta</i> ad int. aus dem Standortswasser in abgestufte Konzentra- tionen des Seewassers gebracht, zeigt nach 5 bis 10 Minuten Volumprozent	Bewegung	Plasmolyse
70%	+	—
80%	+	—
90%	+	—
100%	+	—
110%	+	—
120%	+	—
130%	+	—
140%	+	—
150%	+	—
160%	+	+
170%	+	+
180%	+	+
190%	+	+
200%	+	+
220%	—	+
240%	—	+
260%	—	+
280%	—	+
300%	—	+

Die aus Tab. 1 ersichtliche Bewegungsgrenze gibt aber noch nicht die oberste Konzentrationsstufe für das Kriechen von *Oscillatoria veneta* ad int. an. Nach — ohne Konzentrationsverringerung des Mediums — eingetretener Deplasmolyse trat sogar noch in 280% Seewasser erneut Bewegung ein. Erst in 300% Seewasser konnte unter sonst gleichen Bedingungen keine Wiederkehr der Beweglichkeit festgestellt werden. Protokoll C möge über den zeitlichen Verlauf der einschlägigen Versuche Aufschluß geben (vgl. S. 286).

Ob diese offensichtliche Plasmolyseresistenz dieser Blaualge aus dem Brackwasser sich nur auf das am natürlichen Standort gebotene äquilibrierte Seewasser erstreckt, soll aus parallel geführten Versuchsreihen mit NaCl und Traubenzucker näher hervorgehen (Protokoll D auf S. 288).

Die plasmolytische Grenze ergab sich für das aus dem Standortswasser in die jeweiligen Lösungen gebrachte Objekt bei 0,4 mol Traubenzucker

und NaCl_2 . Sowohl in NaCl_2 als auch in Traubenzucker konnte in dieser Grenzkonzentration an einigen plasmolysierten Fäden Bewegung wahrgenommen werden. In allen darüberliegenden Konzentrationen wurde das Kriechen stets mit dem Eintreten der plasmolytischen Abhebung des Protoplasten eingestellt.

Protokoll C

Oscillatoria veneta ad int. wird aus dem Standortswasser in 160% Seewasser gebracht.

- Nach 2 Minuten: Plasmolyseeintritt beginnend in den Fadenenden. Alle Fäden unbewegt.
- Nach 5 Minuten: Einige Fäden sind wieder in Bewegung, die Plasmolyse hält an.
- Nach 8 Minuten: Plasmolyse positiv, Bewegung an fast allen Fäden.
- Nach 20 Minuten: Beginnender Plasmolyserückgang.
- Nach 25 Minuten: Nur mehr vereinzelt plasmolysierte Fäden.
- Nach 28 Minuten: Plasmolyse in allen Fäden negativ, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 170% Seewasser gebracht.

- Nach 3 Minuten: Plasmolyseeintritt, alle Fäden sind unbewegt.
- Nach 5 Minuten: Alle Fäden plasmolysiert, alle Fäden in Bewegung.
- Nach 20 Minuten: Deplasmolyse in den meisten Fäden, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 180% Seewasser eingelegt.

- Nach 1 Minute: Plasmolyseeintritt, Bewegungsstillstand in allen Fäden.
- Nach 10 Minuten: Plasmolyse hält an, Bewegungsrückkehr.
- Nach 25 Minuten: Die Mehrzahl der Fäden deplasmolysiert.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 190% Seewasser gebracht.

- Nach 4 Minuten: Deutliche Plasmolysen, Bewegungsstillstand im ganzen Präparat.
- Nach 10 Minuten: Allgemein Plasmolyse und Bewegung positiv.
- Nach 38 Minuten: Plasmolyse ist vielfach zurückgegangen, daneben liegen noch plasmolysierte Fäden.
- Nach 45 Minuten: Mehrzahl der Fäden deplasmolysiert.

Oscillatoria veneta ad int. wird in 200% Seewasser gebracht.

- Nach 2 Minuten: Plasmolyseeintritt in den meisten Fäden.
- Nach 10 Minuten: Die meisten Fäden kriechen schon wieder, Plasmolyse positiv.
- Nach 2 Stunden: Die Mehrzahl der Fäden ist deplasmolysiert und in Bewegung.
- Nach 24 Stunden: Im ganzen Material sind keine Plasmolysen zu sehen, alle Fäden sind in Bewegung.

Oscillatoria veneta ad int. wird aus dem Standortswasser in 220% Seewasser eingelegt.

- Nach 2 Minuten: Plasmolyseeintritt, Bewegungsstillstand.
- Nach 30 Minuten: Plasmolyse hält an, die Fäden sind unbewegt.
- Nach 2¼ Stunden: In ca. 50% der Fäden ist bereits Deplasmolyse eingetreten, oder es sind nur mehr die Zellen der Fadenenden plasmolysiert. Die Fäden sind durchweg unbewegt.
- Nach 24 Stunden: Plasmolysen allgemein negativ, alle Fäden kriechen.

Oscillatoria veneta ad int. wird in 240% Seewasser eingelegt.

- Nach 3 Minuten: Plasmolyseeintritt, Bewegungsstillstand.
- Nach 30 Minuten: Plasmolyse hält an, keine Bewegung.
- Nach 2 Stunden: Keine Veränderung.
- Nach 24 Stunden: Die Plasmolyse ist in allen Fäden verschwunden, alle Fäden kriechen wieder.

Oscillatoria veneta wird aus dem Standortswasser in 260% Seewasser gebracht.

- Nach 5 Minuten: Die Plasmolyse ist schon in allen Fäden eingetreten und die Bewegung zum Stillstand gekommen.
- Nach 3¼ Stunden: Zustand unverändert.
- Nach 28 Stunden: Plasmolyse negativ, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. wird aus dem Standortswasser in 280% Seewasser gebracht.

- Nach 2 Minuten: Plasmolyseeintritt, Bewegungsstillstand.
- Nach 30 Stunden: Plasmolyse negativ, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 300% Seewasser gebracht.

- Nach 2 Minuten: Plasmolyseeintritt, Bewegungsstillstand.
- Nach 24 Stunden: Die Plasmolysen sind größtenteils zurückgegangen, an den Fadenenden sind noch Plasmolysen zu beobachten. Die Zellstruktur erscheint verändert. Bewegung negativ.

Protokoll D

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 0,3 mol NaCl eingelegt.

Nach 3 Minuten: Plasmolyse negativ, Bewegung positiv.

Nach 5 Minuten: Unverändert.

Nach 10 Minuten: Unverändert.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 0,4 mol NaCl eingelegt.

Nach 4 Minuten: Plasmolyse negativ, Fäden in voller Bewegung.

Nach 10 Minuten: Plasmolyse positiv, Bewegungsstillstand.

Nach 20 Minuten: Deplasmolyse bereits eingetreten, die Fäden kriechen.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 0,6 mol NaCl eingelegt.

Nach 5 Minuten: Plasmolyse bereits eingetreten, Bewegungsstillstand.

Nach 10 Minuten: Plasmolyse positiv, Bewegung negativ.

Nach 20 Minuten: Alle Zellen wieder deplasmolysiert, alle Fäden in Bewegung.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 0,8 mol NaCl eingelegt.

Nach 2 Minuten: Plasmolyseeintritt, Bewegungsstillstand.

Nach 20 Minuten: Plasmolyse hält an, keine Bewegung.

Nach 24 Stunden: Plasmolyse zurückgegangen, Bewegung an allen Fäden.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 1,0 mol NaCl eingelegt.

Nach 3 Minuten: Plasmolyse schon eingetreten, Bewegungsstillstand.

Nach 60 Minuten: Plasmolyse hält an, Bewegung negativ.

Nach 24 Stunden: Deplasmolyse schon eingetreten, alle Fäden in Bewegung.

4. Osmotische Anpassung an eingengt看 und verdünntes Seewasser

Die plasmolytische Grenze für *Oscillatoria veneta ad int.* liegt, wie aus dem vorstehenden Abschnitt hervorgeht, bei 160% Seewasser. Dieser Wert ergab sich aber nur dann — dies muß ausdrücklich betont werden —, wenn das Versuchsobjekt aus dem Standortswasser in die genannte Seewasserkonzentration gebracht wurde. Hingegen bewirkte schon 50% Seewasser Plasmolyseeintritt, wenn man die Alge vorher in 10% Seewasser eingelegt hat. Wird aber unsere *Oscillatoria* zuerst von destilliertem Wasser um-

geben, vermag sogar eine Seewasserverdünnung von 50% Plasmolyse hervorzurufen. Umgekehrt geht in dreifach konzentriertem Seewasser die Plasmolyse innerhalb einer Minute wieder zurück, wenn sie von 400% Seewasser bewirkt wurde.

Diese Beobachtungen — ihr genauer zeitlicher Verlauf ist im Versuchsprotokoll E festgehalten — lehren, daß der osmotische Wert dieser Brackwasserform eine recht variable Größe darstellt. Die untersuchte *Oscillatoria* ist imstande, sich hypertonen und hypotonen Konzentrationsbereichen des Seewassers weitgehend anzupassen. Diese Fähigkeit der raschen Wiederherstellung des osmotischen Gleichgewichtes dürfte der Lagunenform lebensnotwendig eigen sein, da wir in unseren Versuchen mit verschiedenen hohen Konzentrationen des Seewassers ein Abbild der Verhältnisse in einer Barenenwanne zu geben bemüht sind. Wie in diesen Versuchen müssen auch am natürlichen Standort die osmotischen Werte stark variieren und auch plasmolytische Erscheinungen, wie sie Höfler (1931) für gewisse Rotalgen beschrieben hat, sind unter natürlichen Bedingungen sehr wahrscheinlich.

Der Einfluß der Außenkonzentration auf den osmotischen Wert von Algenzellen ist schon lange bei verschiedenen Arten bekannt. Drews (1896) beobachtet diese Erscheinung an Meeresalgen. Auch Süßwasser-*Oscillatorien* zeigen ein Ansteigen der Grenzkonzentration mit steigender Konzentration der Nährlösung (Prát 1925). Diese Organismen brauchen nach Prát allerdings Tage bis zur Wiederherstellung des osmotischen Gleichgewichtes. Höfler (1931) untersuchte die Rotalge *Antithamnion cruciatum* in Standortswasser und Süßwasser, wobei es sich ergab, daß der osmotische Wert von 1,9 Seewasser im Standortswasser auf 1,4 Seewasser im Süßwasser absinkt. Biebl verleiht 1938 dem Gedanken Ausdruck, daß eine gewisse osmotische Anpassung bei Gezeitenalgen als ökologische Notwendigkeit aufzufassen sei. 1956 bespricht er die „Osmoregulation“ an Hand seiner Versuche mit *Enteromorpha clathrata* (vgl. K. Höfler, W. Url, A. Diskus 1956).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden vergleichsweise auch an *Oscillatoria limosa* Versuche in dieser Richtung unternommen. Es erwies sich dabei, daß diese Süßwasser-*Oscillatoria* sich ebenfalls dem umgebenden Medium anzupassen vermag. So zeigt sie, wenn sie aus dem Standortswasser in einfaches Seewasser gebracht wird, starke Brückenplasmolysen. Werden aber Fäden derselben Art zuerst in 70% Seewasser und erst dann in 100% gegeben, treten keine plasmolytischen Abhebungen ein. An *Oscillatoria*-Fäden aus vierfachem Seewasser bewirkt schon das Durchsaugen von 300% Seewasser Streckung und nach Zutritt von doppeltkonzentriertem Seewasser erfolgt völlige Deplasmolyse.

Schließlich schien noch das Verhalten von *Oscillatoria veneta* ad int. in destilliertem Wasser von Interesse. Diese Brackwasserform scheint auch das extrem hypotonische Medium, in dem ihre plasmolytische Grenze auf 30% Seewasser absinkt, gut zu ertragen, und die Kriechbewegung wird selbst bei längerem Aufenthalt in destilliertem Wasser in keiner Weise beeinträchtigt.

Am 11. Mai wurde *Oscillatoria veneta ad int.* in destilliertes Wasser eingelegt. Bei den Beobachtungen am 12., 18., 21., 24. Mai, 2. und 21. Juni konnte unverändertes Gleiten der Fäden festgestellt werden.

Oscillatoria veneta ad int. zeigt hiemit noch größere Hypotonieresistenz als die von Biebl (1956) untersuchte *Enteromorpha clathrata*. Von ihr berichtet Biebl, daß sie in destilliertem Wasser zwar keinen plötzlichen „Hypotonietod“ (Höfler 1931) erleidet, wohl aber nach 5 bis 7 Tagen abstirbt.

Die Autoren (Prát 1925; Höfler 1931; Biebl 1956) sind ziemlich einstimmig der Meinung, daß Exosmose-Endosmose-Vorgänge die Grundlage für die Erscheinung der osmotischen Regulation seien, und sie nehmen weiter an, daß hohe Salzpermeabilität hierfür die Voraussetzung bilde. In Übereinstimmung mit dieser Auffassung ist das Verhalten von *Oscillatoria veneta ad int.*, wie die kurzen Deplasmolysezeiten im Seewasser zeigen:

Seewasser	Deplasmolyseeintritt nach
160%	20 Minuten
170%	20 „
180%	25 „
190%	38—45 „
200%	2 Stunden
220%	2—3 „
240%	2—3 „
260%	3—4 „

Protokolle

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 30% Seewasser eingelegt.

Nach 5 Minuten: In 300% Seewasser umgelegt.

Nach 8 Minuten: Plasmolyse positiv, Bewegung positiv.

Nach 10 Minuten: Plasmolyse zurückgegangen, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in 10% Seewasser gebracht.

Nach 5 Minuten: In 50% Seewasser umgelegt.

Nach 7 Minuten: Plasmolyse positiv, Bewegung positiv.

Nach 10 Minuten: Plasmolyse zurückgegangen, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. aus dem Standortswasser in destilliertes Wasser umgelegt.

Nach 5 Minuten: In 30% Seewasser gebracht.

Nach 6 Minuten: Plasmolyse positiv, Bewegung positiv.

Nach 10 Minuten: Plasmolyse zurückgegangen, Bewegung positiv.

Oscillatoria veneta ad int. in 400% Seewasser eingelegt.

Nach 1 Minute: Überall relativ starke Plasmolysen, Bewegung negativ.

Nach 5 Minuten: In 100% Seewasser umgelegt.

Nach 6 Minuten: In den meisten Zellen ist die Plasmolyse zurückgegangen, Bewegung negativ.

Nach 22 Minuten: Die Rückdehnung ist bereits in fast allen Zellen erfolgt, Bewegung positiv.

Zusammenfassung und Besprechung

An einigen Süßwasser-Cyanophyceen, vor allem an *Oscillatoria limosa* und *Tolypothrix distorta*, wurden die Veränderungen in hypertonischen Medien untersucht. Beim Durchsaugen der Lösungen zeigte *Oscillatoria limosa* zunächst häufig ein wurmartiges Zusammenkrümmen der Fäden, das an *Tolypothrix* nicht beobachtet werden konnte. Die Krümmungen erfolgen, dem Spiralbau der Fäden entsprechend, in der Drehrichtung der Trichome bei der Kriechbewegung. Kurze Zeit später tritt dann bei beiden Objekten eine Längs- und Querschrumpfung auf, die auf Entquellung des Plasmas und der daraus folgenden Entspannung der Membran beruhen dürfte. In 0,3 mol Traubenzucker erreichen die *Oscillatoria*-Fäden bei der Längsschrumpfung einen Wert von etwa 70% der ursprünglichen Fadenlänge. Bei *Tolypothrix* kontrahiert sich nur der Faden, nicht aber die Scheide. Schon wenige Sekunden nach dem Durchsaugen von Rohr- und Traubenzucker nehmen die Fäden ein völlig zerknittertes Aussehen an: es tritt Cytorrhise ein. Anscheinend werden infolge der Schwerdurchlässigkeit der Membran die Lösungsteilchen zuerst vom Eintritt in die Zelle abgehalten, es wird aber den Zellen auf Grund der äußeren Überkonzentration Wasser entzogen, so daß sich das Plasma mit der Zellwand eindellt. Dabei kommt es vielfach zur Bildung von Cytorrhisefalten, d. h. durchgehender Faltenbildungen der Membran in aufeinanderfolgenden Zellen. Diese Falten verlaufen bei *Tolypothrix* parallel zur Fadenlängsachse, bei *Oscillatoria* sind sie hingegen meist schraubig angeordnet. In CaCl_2 ist die Cytorrhise nur angedeutet und währt nur kurz. In Harnstoff und Seewasser aber unterbleibt sie gänzlich und es werden gleich plasmolytische Abhebungen sichtbar. Dieses Verhalten läßt erkennen, daß die beschriebene Cytorrhise weniger in der Adhäsion des Plasmas an der Wand seine Ursache hat, sondern vielmehr durch die beschränkte Durchlässigkeit der Membran bedingt ist.

Beim Plasmolyseeintritt beginnen sich die Trichome wieder zu strecken, da die Spannung der Wand zunimmt, was deutlich daran sichtbar ist, daß die Fäden nun nicht mehr flexibel sind wie vorher im Zustand der Cytorrhise. In Traubenzucker und Rohrzucker trennt sich der Protoplast anfänglich von den Ecken und Längswänden, CaCl_2 , Seewasser, Harnstoff und Glycerin hingegen bewirken vielfach zuerst Abhebung von den Querwänden. In Übereinstimmung mit den Angaben der einschlägigen Literatur

konnte keine konvexe Abkuglung des Protoplasten festgestellt werden. Wohl wurde eine völlige Loslösung des Protoplasmas von den Längswänden beobachtet, in allen untersuchten Fällen aber blieb das Plasma zumindest in einigen Fortsätzen mit der Querwand in Verbindung. Besonders auffallend sind die zur Querwand führenden Plasmafortsätze bei *Tolypothrix*. Das allgemein gefundene Korrespondieren der negativen Plasmolyseorte läßt eine plasmatische Verbindung zwischen den Zellen eines Fadens vermuten.

Über den Plasmolyse-Rückgang wurden nur orientierende Beobachtungen angestellt. Innerhalb einer Stunde geht bei *Oscillatoria limosa* in 0,5 mol Traubenzucker die Plasmolyse zurück, bei 1,0 mol Traubenzucker dagegen erst nach ca. 1 ½ Stunden. Auch 1,0 mol Rohrzucker bewirkte nach ungefähr 2 Stunden Plasmariückdehnung. Auch in CaCl_2 kommt es zu ziemlich rascher Deplasmolyse. In Harnstoff und Glycerin erfolgt die Wiederausdehnung sehr rasch. Bei *Tolypothrix* ist die Permeabilität auffallend geringer. Die Zellen verharren hier in allen verwendeten Lösungen (Traubenzucker, Rohrzucker, CaCl_2 , Glycerin, Harnstoff) bedeutend länger im plasmolysierten Zustand als bei *Oscillatoria limosa*.

Um zu prüfen, ob durch den Plasmolysevorgang die Vitalität der Zellen vermindert sei, bedurfte es einer Lebensäußerung der Fäden nach der Plasmariückdehnung. Durch das Wiedereinsetzen der Kriechbewegung ist der volle Lebenszustand der Oscillatorien gesichert. Eine Probe konnte hier nur dann zu den weiteren Untersuchungen herangezogen werden, wenn bei mindestens 90% der Trichome in der Mehrzahl der Zellen Plasmolyse eingetreten war. In 0,45 mol Traubenzucker ist nach 14 Tagen erneut Kriechen der meisten Fäden zu beobachten, während in 0,20 bis 0,26 mol Traubenzucker die Bewegungsrückkehr schon nach 20 bis 30 Minuten erfolgt.

Im Rahmen der Untersuchungen war es von besonderem Interesse, die Lage der Plasmolysegrenzen zu ermitteln und sie bei Oscillatorien den Bewegungsgrenzen gegenüberzustellen. Die Bestimmung des osmotischen Wertes auf grenzplasmolytischem Wege erscheint nun aber fraglich, denn die Adhäsion des Plasmas an der Membran ist als nicht zu übersehende Fehlerquelle zu betrachten. Auch wird die Plasmolyse bei Blaualgen von einigen Autoren als Plasmaentquellung aufgefaßt, weshalb die auf grenzplasmolytischem Wege gewonnenen osmotischen Werte erst recht fraglich erscheinen. In der vorliegenden Arbeit wurde daher nur von „Plasmolysegrenzen“ gesprochen, um den Unterschied zur gebräuchlichen „Grenzplasmolyse“ herauszustellen, die einen osmotischen Wert angibt. Die Plasmolysegrenze liegt bei *Tolypothrix* für Traubenzucker und Rohrzucker bei 0,26 mol, für CaCl_2 bei 0,09 mol und für Harnstoff bei 0,45 mol. Den etwas niedrigeren Werten von *Oscillatoria limosa* (für Rohr- und Traubenzucker bei 0,19 mol, für CaCl_2 bei 0,06 mol und für Harnstoff bei 0,50 mol) stehen die Bewegungsgrenzwerte von 0,15 mol Rohrzucker, 0,17 mol Traubenzucker, 0,05 mol CaCl_2 und 0,45 mol Harnstoff gegenüber. Sie liegen also in allen Lösungen etwas tiefer als die Plasmolysegrenzwerte.

Den Versuchen mit Süßwassercyanophyceen wurden Untersuchungen an einer Brackwasserform (in dieser Arbeit „*Oscillatoria veneta ad int.*“

genannt) angeschlossen. Den Erfordernissen der Brackwasserzone gemäß kriecht diese Alge noch in doppelt konzentriertem Seewasser, obwohl alle Zellen plasmolysiert sind. Vermutlich zeigt die genannte Blaualge auch am natürlichen Standort Plasmolyse, wenn die Konzentrationssteigerung sehr rasch erfolgt. Die hier vorliegende geringe Hypertonieempfindlichkeit ist daraus ersichtlich, daß bis zu einer Konzentration von 280% Seewasser nach vollendeter Deplasmolyse die Bewegung wiederkehrt — bis zu 200% kriechen die Fäden im plasmolysierten Zustand! Die Plasmolysegrenzen sind hier von der Konzentration abhängig, in der sich die Algen vor dem osmotischen Eingriff befunden hatten. Sie liegen bei 160% Seewasser, wenn die Alge vorher in Standortswasser war. 30% Seewasser bewirkt schon Plasmolyse, wenn die *Oscillatoria* vorher in destilliertes Wasser gebracht worden ist. Dagegen deplasmolysiert 300% Seewasser Fäden, die zuvor in 400% starke Plasmolyse aufwiesen. Die Fähigkeit dieser osmotischen Regulation zeigt auch die Süßwasserform *Oscillatoria limosa*, allerdings nur in beschränktem Maße.

Beachtenswert ist wohl auch die Resistenz von *Oscillatoria veneta* *ad int.* gegenüber destilliertem Wasser, in dem die meisten Organismen den Hypotonietod erleiden. Die untersuchte Brackwasseralge kriecht noch lebhaft nach 40tägigem Aufenthalt in destilliertem Wasser. Auf Grund ihrer hohen Salzpermeabilität, die aus den kurzen Deplasmolysezeiten ersichtlich ist (in 160% Seewasser nach 20 Minuten, in 200% Seewasser nach 2 Stunden, in 260% Seewasser nach 3 bis 4 Stunden), vermag sie sich anscheinend den osmotischen Bedingungen der Brackwasserzone dadurch anzupassen, daß sie durch Exosmose-Endosmose-Vorgänge ihren osmotischen Wert proportional zur Außenkonzentration einstellt.

Bezugnehmend auf die Hauptfragestellung der Arbeit, zeigt sich die Unschädlichkeit der Plasmolyse bei der zuletzt untersuchten Alge besonders deutlich, und wir sehen also die Cyanophyceen trotz ihrer spezifischen morphologischen Struktur zu einer echten Plasmolyse im Sinne der de Vriesschen Definition befähigt.

Die vorliegenden Untersuchungen verdanken ihre Entstehung der Anregung meines hochverehrten Lehrers Herrn Prof. Dr. K. Höfler, dem ich dafür sowie für die bereitwillige Unterstützung und Förderung der Arbeit meinen wärmsten Dank sage.

Die Herstellung der photographischen Tafeln verdanke ich den Herren Dr. R. Jarosch und Dr. W. Uhl.

Literatur

- Biebl, R., 1938: Trockenresistenz und osmotische Empfindlichkeit der Meeresalgen verschieden tiefer Standorte. Jb. wiss. Bot. 86, 350.
— 1956: Zellphysiologisch-ökologische Untersuchungen an *Enteromorpha clathrata*. Ber. dtsch. bot. Ges. 69, 75.
Bornet, E., und Chr. Flahault, 1886: Revision des Nostocacées hétérocystées. Ann. Sci. natur. Bot. VII, s. 3, 323.
Borzi, A., 1886: Le comunicazioni intracellulari delle Nostochinee. Malpighia 1, 28.

- Brand, F., 1903: Über das osmotische Verhalten der Cyanophyceenzelle. Ber. dtsch. bot. Ges. 21, 302.
- Cholnoky, B. J. v., 1937: Zur Kenntnis der Cyanophyceenzelle. Protoplasma 28, 524.
- Correns, C., 1897: Über die Membran und die Bewegung der Oscillatorien. Ber. dtsch. bot. Ges. 15, 139.
- De Vries, H., 1877: Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung. Leipzig.
- Drawert, H., 1948: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle IV. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes und des Außenmediums auf die Harnstoffaufnahme. Planta (Berl.) 35, 579.
- und I. Metzner, 1956: Fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Beobachtungen an *Cylindrospermum* und einigen anderen Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. 69, 291.
- Drews, 1896: Zitiert nach Prát 1925.
- Elo, J. E., 1937: Vergleichende Permeabilitätsstudien, besonders an niederen Pflanzen. Ann. bot. Soc. zool.-bot. Fenn. Van. 8, 1.
- Fischer, A., 1897: Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Geitler, L., 1930: Cyanophyceae, in Rabenhorsts Kryptogamenflora. Leipzig Bakterien. Jena 1897.
- 1905: Die Zelle der Cyanophyceen. Bot. Ztg. 63, 51.
- 1930/1932.
- 1932: Cyanophyceae, in Rabenhorsts Kryptogamenflora. Leipzig 1930—1932.
- 1936: Schizophyceen, in Linsbauers Handbuch der Pflanzenanatomie. Berlin 1936.
- Gomont, M., 1892: Monographie des Oscillariées. Ann. Sci. natur. Bot. VII, s. 15, 263.
- Hansgirg, A., 1885: Bemerkungen über die Bewegungen der Oscillarien. Bot. Ztg. 41, 851.
- Harder, R., 1917: Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen *Nostoc punctiforme*. Z. Bot. 9, 145.
- Höfler, K., 1918: Über den zeitlichen Verlauf der Plasmadurchlässigkeit in Salzlösungen. Denkschr. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I, 37, 314 (1919).
- 1930a: Über Eintritts- und Rückgangsgeschwindigkeit der Plasmolyse und eine Methode zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasten. Jb. wiss. Bot. 73, 300.
- 1931: Hypertonietod und osmotische Resistenz einiger Rotalgen. Österr. bot. Z. 80, 51.
- 1944: Rotalgen und Blaualgen, zur Frage ihrer natürlichen Verwandtschaft. Biol. Zbl. 64, 282.
- 1930b: Das Plasmolyseverhalten der Rotalgen. Z. Bot. 23, 570.
- 1951: Plasmolyse im Natriumkarbonat. Protoplasma 40, 426.
- 1955: Über Plastiden und Blaszellen der Rotalgen. Publ. Staz. Zool. Napoli (Festband Dohrn) 28, 255.
- W. Url, und A. Diskus, 1956: Zellphysiologische Versuche und Beobachtungen an Algen der Lagune von Venedig. Boll. Mus. Civ. Venezia 9, 63.
- Klebahn, H., 1922: Neue Untersuchungen über Gasvakuolen. Jb. Bot. 61, 535.
- Kohl, F., 1903: Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle und die mitotische Teilung ihres Kerns. Jena.
- Kolkwitz, R., 1897: Über die Krümmungen und den Membranbau bei einigen Spaltalgen. Ber. dtsch. bot. Ges. 1897, 15.
- Krenner, I. A., 1925: Über die Bewegung der Oscillatorien. Arch. Protistenk. 51, 530.

- Kuchar, K., 1949: Plasmolyseverlauf und Trichomzerfall bei Oscillatorien. *Phyton* 2, 213.
- Küster, E., 1929: Pathologie der Pflanzenzelle. I. Pathologie des Protoplasmas. *Protoplasmanomographien*, Bd. 3, Berlin.
- 1942: Quellung und Entquellung des pflanzlichen Protoplasmas. Beobachtungen an Cyanophyceen. *Z. Mikrosk.* 59, 167 (1943).
- Mühldorf, A., 1937: Das plasmatische Wesen der pflanzlichen Zellbrücken. *Beih. Bot. Cbl. A* 56, 171.
- 1938: Einige Betrachtungen zur Membranmorphologie der Blaualgen. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 56, 316.
- Prát, S., 1920: Několik poznámek na organisaci Cyanophycei. *Rozpr. čes. Akad. Tř. II*, 1920, 20.
- 1921: Plasmolyse des Cyanophycées. *Bull. internat. Acad. Sci. Bohême, Prag.*
- 1925: Beitrag zur Kenntnis der Organisation der Cyanophyceen. *Arch. Protistenk.* 52, 142.
- Redinger, K., 1934: Studien zur Ökologie der Moorschlenken. *Beih. Bot. Cbl.* 3, Abt. B.
- Schmid, G., 1923: Das Reizverhalten künstlicher Teilstücke, die Kontraktilität und das osmotische Verhalten der *Oscillatoria Jenensis*. *Jb. wiss. Bot.* 62, 328.
- Schönleber, K., 1936: *Scytonema Julianum*. Beiträge zur normalen und pathologischen Zytologie und Zytogenese der Blaualgen. *Arch. Protistenk.* 88, 36.
- 1937: Über die Vitalfärbung der Cyanophyceen. Zytomorphologische Beobachtungen an einer epiphyllen Form. *Z. Mikrosk.* 54, 203.
- Ullrich, H., 1929: Über die Bewegungen von Beggiatoaceen und Oscillatoriaceen. *II. Planta (Berlin)* 9, 144.

Polarisation und Phasenkontrast-Verfahren als Hilfsmittel bei der photographischen Wiedergabe mikroskopischer Präparate von Pflanzengeweben

Von

Ingrid Roth und João O. Nedel

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

Mit 15 Textabbildungen

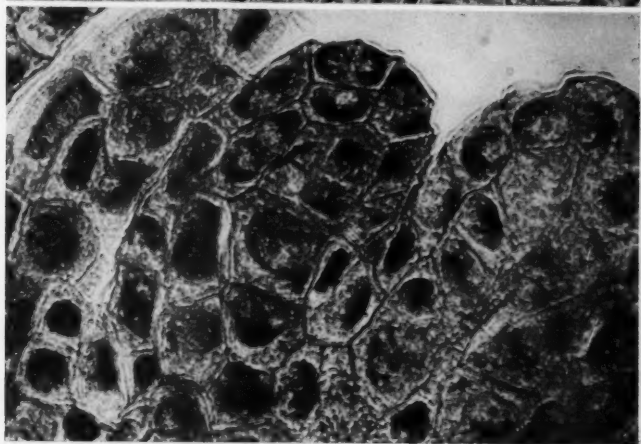
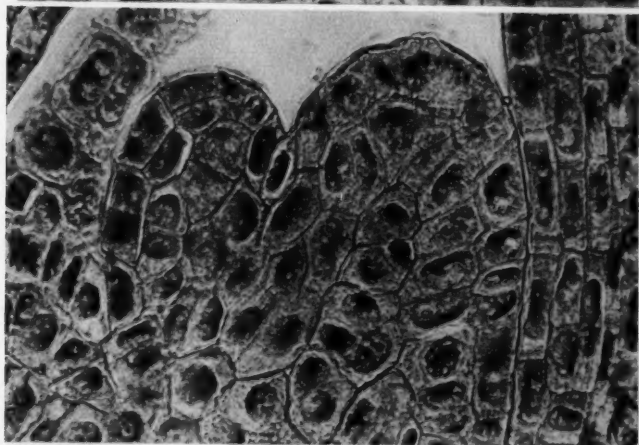
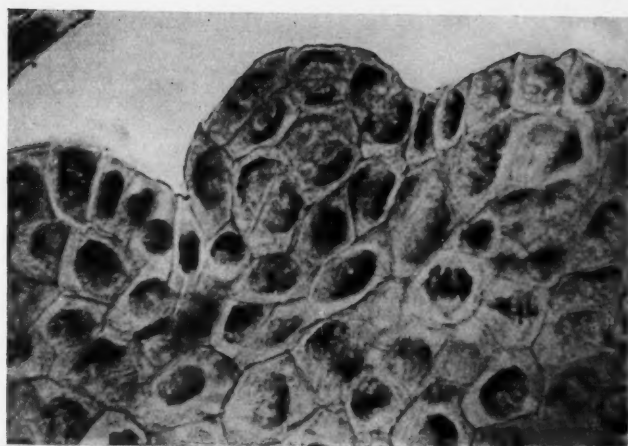
(Eingegangen am 19. Juli 1957)

Für diejenigen, die entwicklungsgeschichtlich arbeiten, ergibt sich immer wieder die Notwendigkeit, von jungen meristematischen Geweben einwandfreie Präparate anzufertigen, die dann später gezeichnet oder photographiert werden können. So gut sich auch junges weiches Gewebe schneiden lassen mag, so schwierig ist doch oft eine kontrastreiche Färbung und mehr noch eine klare photographische Darstellung zu erzielen. Die plasmareichen Meristemzellen nehmen zwar Farbstoff rasch und in großer Menge auf, färben sich aber meistens fast völlig homogen an. Bei solchen Präparaten ist manchmal sogar eine Identifizierung der einzelnen Zellen schwierig, geschweige denn, daß auf mikrophotographischen Aufnahmen noch besondere Einzelheiten zu erkennen wären. Um eine kontrastreiche Färbung auszuarbeiten, die vor allem für solche histogenetische Präparate geeignet ist, bei denen gewisse Zellgruppierungen — wie etwa im Vegetationskegel — sichtbar gemacht werden sollen, haben wir zunächst verschiedene Färbungen versucht. Es kommt dabei in erster Linie meist darauf an, die Zellwände möglichst klar hervorzuheben (siehe auch von Stosch 1955). Hierfür werden eine Reihe von spezifischen Zellwandfarbstoffen empfohlen, wie beispielsweise Tannin-Eisenchlorid und Gentianaviolett; auch in der „Mikrotechnique“ von Johansen findet sich eine Liste verschiedener Zellwandfärbemittel, darunter etwa Fastgreen. Dabei ist aber von vornherein zu erwähnen, daß sich blaue und schwarze Töne für

Abb. 2. Wie 1, im Hellfeld aufgenommen. Mikr. vergr. 12×42 .

Abb. 4. Dasselbe wie 3, im Hellfeld. Mikr. vergr. 12×42 .

Abb. 6. Dasselbe wie 5, im Hellfeld. Mikr. vergr. 12×42 .



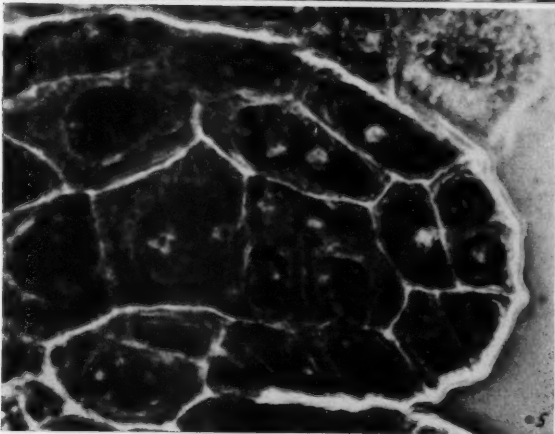
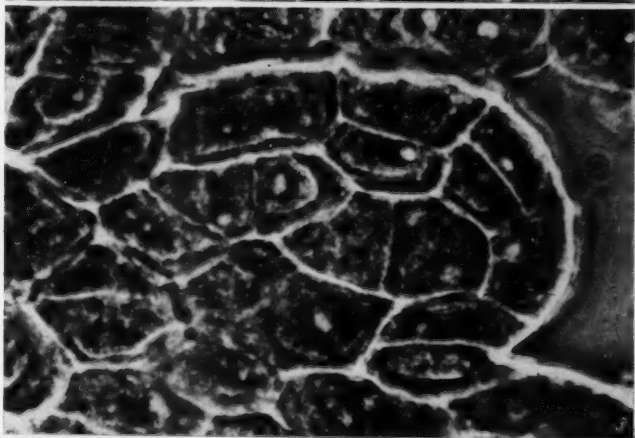
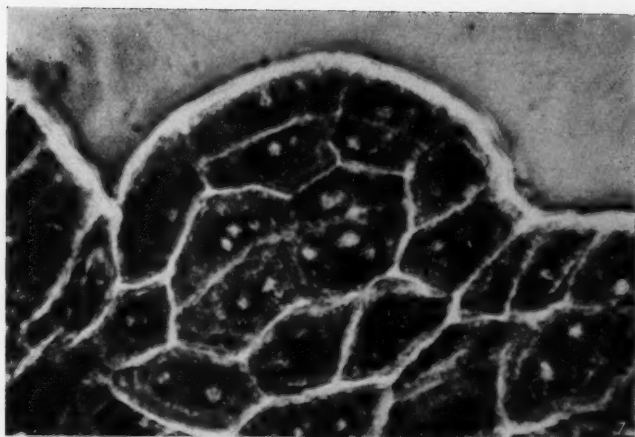
mikrophotographische Zwecke weitaus am besten eignen. In dieser Hinsicht scheint die Tannin-Eisenchlorid-Färbung eine der wenigen Färbemethoden zu sein, mit der sich auch bei meristematischem Gewebe nur die Zellwände anfärben lassen. Mit vielen anderen Farbstoffen, die sonst noch als typische Zellwandfarbstoffe gelten, färbt sich häufig auch das Plasma der jungen Gewebe etwas mit. Selbstverständlich ist eine gleichzeitige Plasma- und Kernfärbung sehr wünschenswert, da man auf histogenetischen Präparaten ja vor allem auch Kern- und Zellteilungen sowie die Verteilung des Plasmas in den verschiedenen Teilungszonen erkennen will, andererseits wird dadurch aber wieder die Deutlichkeit des Zellnetzes verwischt und das Nachzeichnen von gewissen Zellbildern sehr erschwert. Die Tannin-Eisenchlorid-Färbung allein kann daher nur in solchen Fällen befriedigen, wo lediglich gewisse Gewebestrukturen hervorgehoben werden sollen, was an sich selten der Fall ist. Man greift daher meist zu einer Gegenfärbung und verwendet dann wohl am besten Safranin. Auf diese Weise lassen sich unter Umständen ganz gute Kontraste erzielen: Die Zellwände erscheinen intensiv grauschwarz, Plasma und Kern rot. In sehr jungen, stark färbbaren Geweben, wie etwa von Embryonen, wird aber auch dieser Unterschied — vornehmlich bei der mikrophotographischen Wiedergabe — nur wenig zum Ausdruck kommen. Dies trifft besonders für die Schwarzweiß-Mikrophotographie zu, da hier keine Farbnuancen zur Geltung kommen, sondern lediglich die Farbtintensität eine Rolle spielt (man vergleiche hierzu die Abb. 2, 4, 6 und 12).

Nachdem sich durch das Variieren der Färbemethoden keine allzu wesentlichen Unterschiede in der mikrophotographischen Wiedergabe der Präparate erzielen ließen, versuchten wir uns gewisse optische Erscheinungen in der Mikroskopie zunutze zu machen. Für solche Versuche erschien in erster Linie das Phasenkontrastverfahren geeignet. Wir fertigten deshalb Vergleichsaufnahmen im gewöhnlichen Hellfeld und mit dem Phasenkontrastverfahren an. Die Abb. 1, 3, 5 und 2, 4, 6 bringen eine derartige Gegenüberstellung. Auf den Abb. 2, 4 und 6 sind lichtmikroskopische Aufnahmen im Hellfeld wiedergegeben, die von Gentianapräparaten angefertigt wurden. Die Gentianafärbung, so wie wir sie ausführten, erwies sich als eine recht dauerhafte und gute Färbung, die sich in kürzester Zeit ohne weitere Vorbereitungen bewerkstelligen läßt. Wir benutzten hierzu eine konz. wässrige Lösung von Gentianaviolett, die mit 2 Teilen Wasser auf ein Drittel verdünnt wurde. Eine Färbedauer von 10–30 Minuten — je nach Objekt — genügte in den meisten Fällen; differenziert wurde dann jeweils mit schwach angesäuertem 70%igem Alkohol. Die Abb. 2, 4 und 6 zeigen zwar, daß sich Kerne, Plasma und

Abb. 1. Junge Blattanlage eines *Triticum*-Embryos mit Phasenkontrast aufgenommen, medianer Längsschnitt. Färbung: Gentianaviolett. Optovar 2,5.

Abb. 3. Etwas ältere Blattanlage von *Triticum*, Phasenkontrast. Gentianaviolett. Optovar 2,5.

Abb. 5. *Triticum*, noch weiter entwickelte Blattanlage. Phasenkontrast. Gentianaviolett. Optovar 2,5.



Zellwände durch diese Färbung ganz gut herausheben lassen, doch wäre es gerade in diesem Falle sehr wünschenswert gewesen, wenn die Zellwände auf den Aufnahmen distinkt hervorgetreten wären. Die Präparate stellen nämlich mediane Längsschnitte durch verschieden alte Blattanlagen eines Weizenkeimlings dar. Da die Blattanlagen Spitzeninitialen besitzen, die sich nach einem ganz bestimmten Rhythmus teilen, wäre hier die Hervorhebung der Zellwände — vor allem auf der mikrophotographischen Aufnahme — von besonderer Bedeutung gewesen. Dies ist nun tatsächlich mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens gelungen. Durch Phasenverzögerung des Lichts kann man hier vor allem gute Phasendifferenzen zwischen dem Zellinneren und der Zellwand erzeugen, da die Lichtbeugung bekanntlich an den Rändern am stärksten ist. Auf diese Weise macht sich der Bildkontrast hauptsächlich an den Zellgrenzen bemerkbar. Die Abb. 1, 3, und 5 zeigen solche Aufnahmen, auf denen die Zellwände infolge ihres hohen Lichtbrechungsindex hell leuchtend hervortreten. Der Zellumriß wird dadurch unvergleichlich deutlicher als bei den obenstehenden Aufnahmen im gewöhnlichen Hellfeld, obwohl die Phasenkontrastaufnahmen etwa um zwei Drittel stärker vergrößert wurden, wodurch sie eigentlich an Schärfe verlieren müßten. Die Abbildungen 3 und 5 sind aus Raumersparnisgründen horizontal gelegt worden. Die kleine Zellgruppe an der Spitze der Blattanlage, die in Abb. 5 besonders gut erkennbar ist, stellt die Initialgruppe dar. Man kann an ihr noch deutlich die Segmentierungsart der Spitzenzelle feststellen. Die Initialzelle gibt jeweils nach rechts, nach rückwärts und nach links Segmente ab und offenbart sich hierdurch als epidermale Initiale, die nach dem Schema des Zwei-Zell-Rhythmus arbeitet.

Eine ähnliche Vergleichsmöglichkeit bieten die Abb. 9—12. So stellt Abb. 12 einen Teilausschnitt aus dem Blattstielquerschnitt von *Anthurium* dar. Auch dieses Präparat wurde mit Gentianaviolett angefärbt. Dem ungeschulten Auge werden auf diesem Präparat, das im Hellfeld aufgenommen wurde, alle Zellen gleich erscheinen und keine besonderen Gewebestrukturen auffallen. Auf der Phasenkontrastaufnahme (Abb. 9) treten dagegen die Zellwände wieder viel schärfer hervor und man kann nun deutlich erkennen, daß die dicht unter der Epidermis liegenden Zellen in Stockwerken übereinander angeordnet sind; offensichtlich sind diese Etagen durch Periklinalteilungen von subepidermalen Zellen entstanden. Die weiter nach innen gelegenen Zellen scheinen dagegen regellos und ohne besondere Ordnungsprinzipien über den Querschnitt verteilt zu sein. Noch deutlicher tritt die Reihenanordnung der subepidermalen Zellen vielleicht bei stärkerer Vergrößerung hervor (Abb. 11).

Ließen sich im Phasenkontrastverfahren alle Zellwände gleichmäßig hervorheben, so kann man durch Anwendung von polarisiertem Licht noch zusätzlich einen weiteren Effekt erzielen: Bei bestimmter Einstellung der Präparate können hier nämlich ganz besondere Gewebestrukturen sichtbar gemacht werden. Ein Beispiel hierfür bringen Abb. 7 und 8, auf denen Ausschnitte aus Blattstielquerschnitten von *Ginkgo biloba* dargestellt sind. Auch hier wurde die Gentianaviolett-färbung angewandt. Beide Aufnahmen wurden in polarisiertem Licht bei Zwischenschaltung eines Kompensators (Rot I)

hergestellt. Bei einer gewissen Einstellung im Polarisationsmikroskop zeigt sich dann, daß die auf der Abbildung senkrecht verlaufenden Zellwände

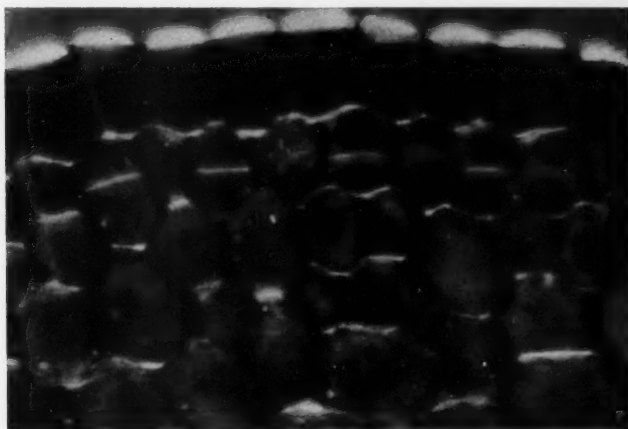


Abb. 7. Ausschnitt aus einem Stielquerschnitt von *Ginkgo biloba*; der Ausschnitt zeigt ein Zellbild aus der Dorsalseite des Blattstiels mit einer teilungsfähigen subepidermalen Zelllage. Die Zellen der ersten subepidermalen Schicht fallen durch ihre geringere Größe auf; sie haben sich kürzlich periklinal durchgeteilt. Die Periklinalwände stehen als helle Linien hervor. In polarisiertem Licht aufgenommen. Gentianaviolett. Optovar 16.

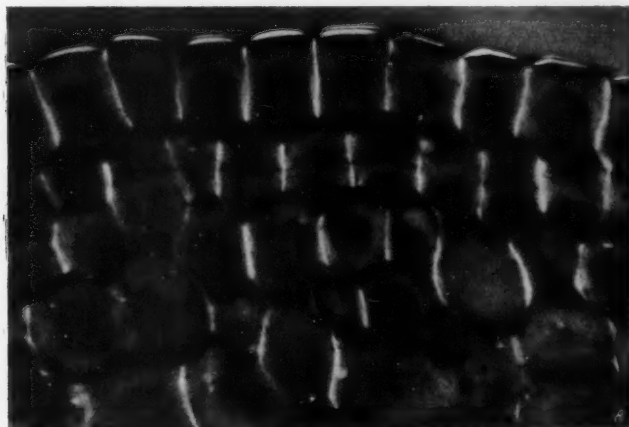


Abb. 8. Dasselbe Bild wie oben, bei Drehung des Präparates um 90 Grad. Optovar 1,6.

dunkel erscheinen, die quergestellten dagegen hell (Abb. 7). Da die Zellen hier ziemlich regelmäßig angeordnet sind, ergibt sich ein ganz bestimmtes

Strukturbild. Es fallen vor allem die kleinzelligen Zellgruppen unter der Epidermis auf; sie bestehen aus Zweiergruppen von Zellen, die übereinander liegen und nur durch eine dünne Querwand getrennt sind. Man sieht auf den ersten Blick, daß sie aus einer einzigen Zelle durch Querteilung hervorgegangen sind. Besonders die vier Zweiergruppen direkt unter der Epidermis auf der rechten Seite der Abbildung heben sich sehr deutlich heraus. Den entgegengesetzten Effekt kann man durch Drehung des Präparates um 90° erreichen. Es erscheinen dann die ursprünglich dunklen Wände hell, die Querwände dagegen dunkel (Abb. 8). Die neu eingezogenen Querwände in den Zweiergruppen unter der Oberhaut werden dann als zarte, hauchdünne Membranen kenntlich. In diesem Falle befindet sich nämlich ein subepidermales Meristem unter der Oberhaut, das sich ständig periklinal weiterteilt und auf diese Weise dauernd neue Zellen nach innen abgibt. Da aber relativ selten Teilungen stattfinden und die Tochterzellen rasch heranwachsen, verwischt sich die stockwerkartige Anordnung der Zellen bald und ist nur in direkter Nähe der Epidermis erkennbar.

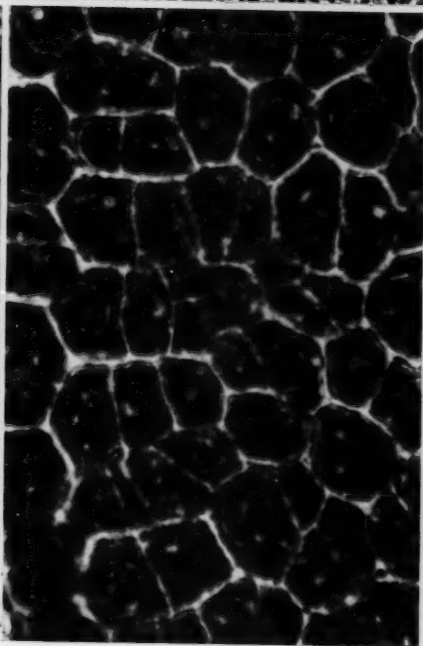
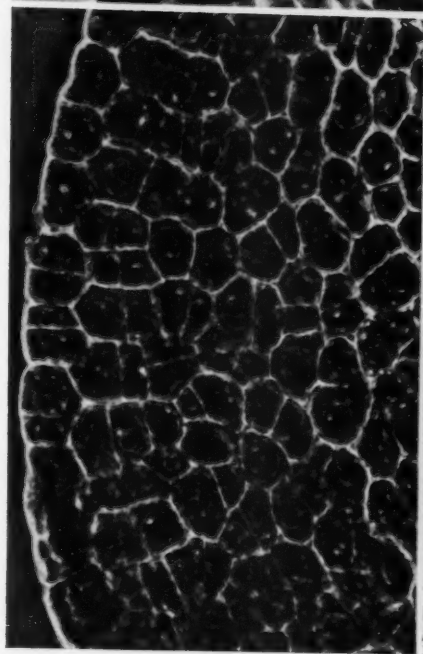
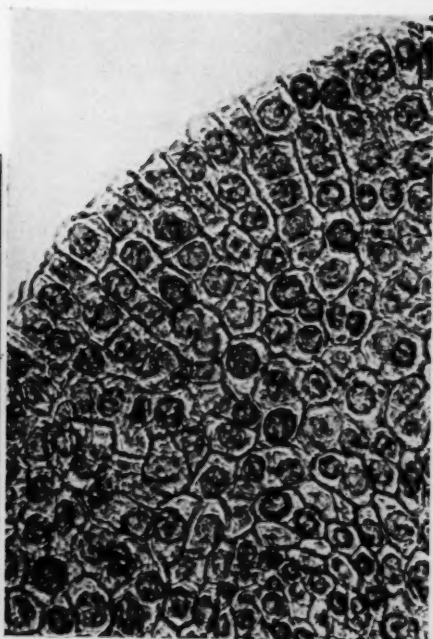
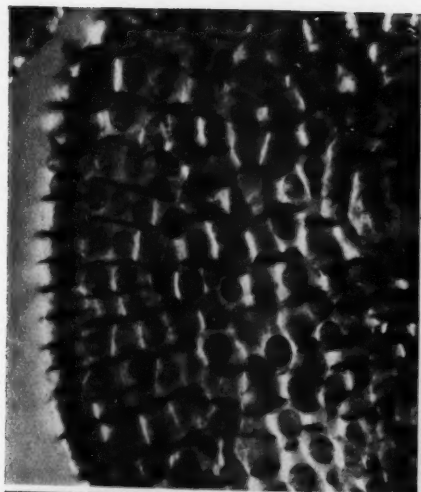
Noch eindrucksvoller lassen sich aber die Vorteile des Polarisationsverfahrens bei Betrachtung sogenannter Reihenmeristeme demonstrieren. Abb. 14 und 15 zeigen Querschnitte durch die ventrale Kielbildung der Schlauchblätter von *Sarracenia*. Die Zellwände dieser Präparate wurden mit Tannin-Eisenchlorid behandelt und färbten sich intensiv dunkelgrau. Auf eine Gegenfärbung mit Safranin, wie sie Foster empfiehlt (siehe Johansen, S. 91), wurde in diesem Falle verzichtet, da es uns lediglich auf die Anordnung der Zellen ankam. Photographiert man die Präparate im gewöhnlichen Hellfeld, so erscheint der Schnitt wiederum ziemlich homogen grau, obwohl Plasma und Kerne kaum angefärbt wurden. Auch mit Phasenkontrast ist kein besonderer Effekt zu erzielen (Abb. 13). Die Abb. 14 und 15 zeigen dagegen auf den ersten Blick eine bestimmte Gewebestruktur. Die Zellen im Kiel sind alle in deutlichen Längsreihen angeordnet. Die Längswände erscheinen auf den Mikrophotographien schwarz, die Querwände weiß. Ein umgekehrtes Bild läßt sich wieder durch Drehung des Präparates um 90° erreichen. Doch werden dadurch die Strukturen wieder etwas undeutlicher. Die Reihenstruktur in dem unter der Epidermis liegenden Gewebe kommt dadurch zustande, daß auch hier die Zellen unter der Epidermis teilungsfähig bleiben und ständig nach innen neue Zellelemente abgeben, in ähnlicher Weise, wie dies oben für *Ginkgo* beschrieben wurde. Dadurch, daß sich das Gewebe aber bei *Sarracenia* viel rascher teilt und als Ganzes längere Zeit meristematisch bleibt,

Abb. 9. Dorsaler Ausschnitt aus einem Blattstielquerschnitt von *Anthurium*. Phasenkontrast. Gentianaviolett. Optovar 1,6.

Abb. 10. Dorsaler Ausschnitt aus demselben Präparat, in polarisiertem Licht. Die Zellreihen treten besonders deutlich hervor, da die Längswände schwarz, die Querwände dagegen weiß erscheinen. Optovar 1. 3 Min. belichtet.

Abb. 11. Dasselbe stärker vergrößert. Phasenkontrast. Optovar 2,5.

Abb. 12. Vergleichsaufnahme im Hellfeld.



so daß sich die Zellen in ihrer Lage und Größe zunächst kaum verändern, ergeben sich deutliche Längsreihen, die durch dünnere Querwände unterbrochen sind. Da diese Querwände bei bestimmter Einstellung in gerichtetem Licht hell erscheinen, heben sich die dunklen längsgerichteten Zellwände besonders kontrastreich hervor. Damit ist ein für die Beurteilung der Histogenese dieses Blattkieses wesentlicher Effekt erzielt. Man erkennt sofort, daß es sich hierbei um ein sogenanntes Ventralmeristem handeln muß. Auf der Vergleichsabbildung (Abb. 13) ist dies nicht ohne weiteres zu erkennen. Damit kann gezeigt werden, daß die gesamte Kielbildung des Schlauchblattes von *Sarracenia* durch ein subepidermales Reihenmeristem gebildet wird, das hier sogar besonders charakteristisch ausgeprägt ist.

Die hier beschriebene Erscheinung, die kambiale Gewebestrukturen im photographischen Bild so deutlich werden läßt, beruht natürlich auf der Tatsache, daß die Zellulosewände infolge ihrer besonderen submikroskopischen Struktur doppelbrechend sind. Auf unseren Abbildungen scheint der Hintergrund deshalb hell, weil durch Zwischenschaltung eines Quarzplättchens ein Kompensationseffekt erreicht wurde. Steht nun die Zellwand parallel zur Schwingungsebene des Polarisators, so erscheint sie dunkel, senkrecht dazu aber hell. Durch Drehung des Objekttisches um 90° kann dann der entgegengesetzte Effekt erzielt werden. Da die Zellen in kambialen Meristemen mehr oder weniger streng in Reihen gelagert sind, erscheinen die Längswände — bei Einstellung der Zellreihen in Richtung der Schwingungsebene des Polarisators — dunkel und werden dadurch besonders stark hervorgehoben.

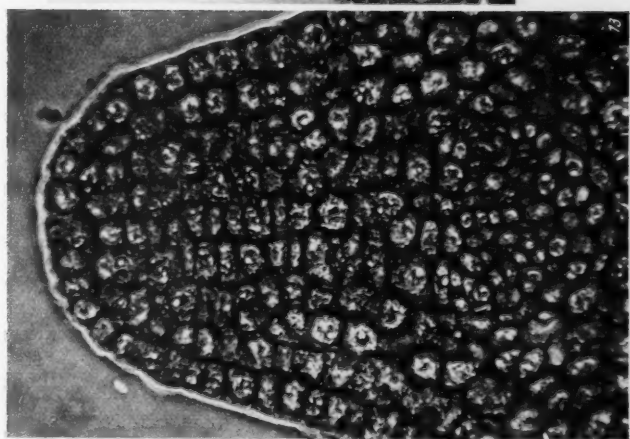
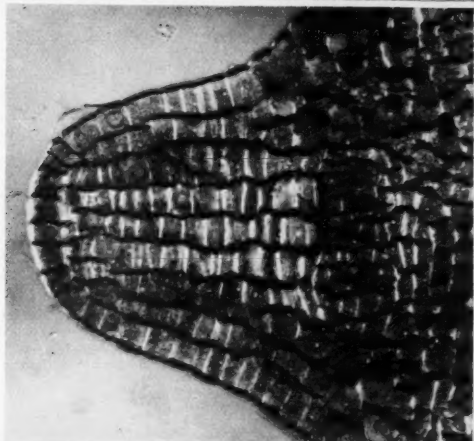
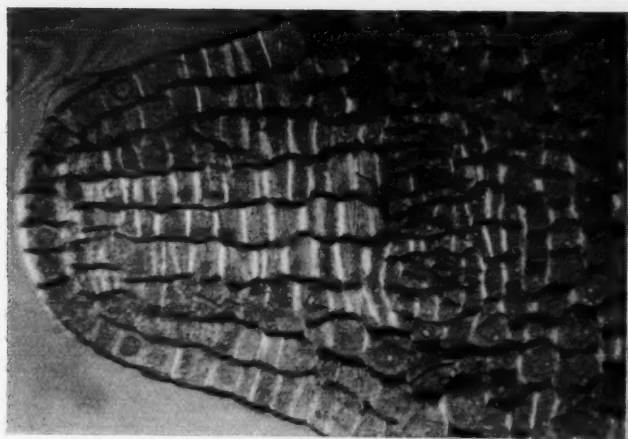
Im Falle von *Sarracenia* kommt zu dem Kompensationseffekt noch ein weiteres günstiges Moment hinzu, indem die Querwände der Meristemzellreihen hier viel stärker doppelbrechend sind als die Längswände. Es folgt daraus, daß das Mikrofibrillengeflecht in den Längswänden viel weniger entwickelt ist als in den Querwänden. Dies könnte entweder vom Streckungswachstum der Zellen herrühren, durch welches die Mikrofibrillentextur der Primärwand passiv überdehnt wird, oder es könnte aber auch eine Ringtextur vorliegen, so daß die meisten Mikrofibrillen auf dem Schnitt durch die Längswand quer getroffen würden. Inwieweit diese Beobachtung verallgemeinert werden kann, müßte allerdings noch untersucht werden¹.

¹ Herrn Professor Frey-Wyssling verdanke ich die Prüfung der Präparate und die Deutung der Erscheinung.

Abb. 13. Querschnitt durch die ventrale Kielbildung von *Sarracenia*. Phasenkontrast. Färbung: Tannin-Eisenchlorid. Die Zellreihen treten nicht sehr deutlich hervor. Optovar 1. $\frac{1}{2}$ Sek. belichtet.

Abb. 14. Etwa gleichalte Kielbildung, in polarisiertem Licht. Die Zellreihen heben sich ganz besonders deutlich ab. Tannin-Eisenchlorid.

Abb. 15. Wie oben, Negativ stärker vergrößert.



Zusammenfassung

1. Ein kontrastreiches Anfärben der Zellwände sehr junger meristematischer Gewebe kann mit den gewöhnlichen Färbemethoden nicht zufriedenstellend erreicht werden. Die Färbeverfahren genügen vor allem dann den Anforderungen meist nicht, wenn mikrophotographische Aufnahmen von den Präparaten gemacht werden sollen. Es wurde deshalb versucht, gewisse optische Effekte in der Mikroskopie für diese Zwecke nutzbar zu machen.

2. Sehr kontrastreich treten die Zellwände hervor, wenn das Phasenkontrastverfahren angewendet wird. Da sich die Zellwände hierdurch auf den Mikrophotos als hellglänzende Umrahmenungen der Zellen hervorheben lassen und dadurch auch Unterschiede in der Zellwanddicke deutlicher werden, können zusammengehörige Zellgruppen besser identifiziert werden.

3. Zellgruppen, die in Etagen oder ganzen Zellreihen angeordnet sind, können durch das Polarisationsverfahren besonders gut sichtbar gemacht werden. Bei Einstellung der Zellreihen in der Schwingungsebene des Polarisators erscheinen — unter Anwendung eines Kompensationseffektes — die längsgerichteten Zellwände auf der Mikrophotographie schwarz, die quergestellten dagegen weiß. Durch diese Methode kann man die Zellanordnung auf den Präparaten sehr markant hervorheben. Alle Arten von Kambien lassen sich auf diese Weise sehr eindrucksvoll darstellen.

Die Untersuchungen wurden am Zeiss-Standardmikroskop mit KPL-Okular 12,5 und Achromatobjektiv 40 durchgeführt.

Literatur

- Frey, A., 1926: Die submikroskopische Struktur der Zellmembranen. Jb. wiss. Bot. 65, 195—233.
- 1927: Das Wesen der Chlorzinkjodreaktion und das Problem des Faserdichroismus. Jb. wiss. Bot. 67, 597—634.
- Frey-Wyssling, A., 1930: Mikroskopische Technik der Micell-Untersuchung von Zellmembranen. Z. Mikrosk. 47, 1—46.
- 1938: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Protoplasma-Monographie 15.
- 1942: Über Zellwände mit Röhrenstruktur. Jb. wiss. Bot. 90, 705—730.
- 1952: Kontrasteffekt dicker Objekte im Phasenmikroskop. Naturwiss. 39, 145.
- 1953: Kontrasteffekt linsenartiger Objekte im Phasenmikroskop. Naturw. 40, 517.
- Johansen, D. A., 1940: Plant microtechnique. New York and London.
- Menzel, E., 1957: Das Phasenkontrastverfahren. In: Handbuch der Mikroskopie in der Technik, herausgeg. von H. Freund. Band I, Teil 1, Frankfurt a. M.
- Roth, I., 1953: Entwicklungsgeschichtliche und histogenetische Studien an *Sarracenia*-Schlauchblättern. Planta 43, 135—162.
- 1954: Über die Entstehung dorsaler Blattschläuche bei *Anthurium scherzerianum* Schott. Planta 44, 545—561.
- 1957: Relation between the histogenesis of the leaf and its external shape. Bot. Gaz. 118, 237—245.
- Stosch, H. A. v., 1955: Zur Darstellung pflanzlicher Meristeme. Z. Mikrosk. 67, 305—310.

Das Verhalten der Chondriosomen bei Kappenplasmolyse

Von

Karl Höfler und Walter Url

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Juli 1957)

I. Einleitung

Es war ein Erlebnis für den Mikroskopiker, als mit der Einführung des Phasenkontrastes die „Mitochondrien“ der Lebendbeobachtung leicht zugänglich gemacht wurden.

Von Altmann (1890) entdeckt, von Benda (1898) mit ihrem Namen belegt, sind sie jahrzehntelang vorwiegend nur an entsprechend fixierten und gefärbten Präparaten studiert worden. Sie standen besonders für die französische Cytologenschule im Vordergrund, die zu ihrer Kenntnis wohl am meisten beigetragen hat. Der Versuch, sie mit den Plastiden in genetischen Zusammenhang zu bringen, hat allerdings ein Intermezzo bedeutet (vgl. Küster 1935, S. 285, 1956, S. 396), das vorübergehend die Chondriosomenforschung in der Zellphysiologie fast in Mißkredit gebracht hätte. Auch mußte der gelegentliche Versuch, in das Chondriom des Plasmas, analog zum Chromosomenapparat des Zellkerns, den Sitz der Plasmagene zu verlegen, schon bei der ersten programmatischen Ausführung über vergleichende Protoplasmatik (Höfler 1932) abgelehnt werden.

Eine neue Note kam in die Chondriomforschung, als Bensley und Hoerr (1934) aus zerkleinerten Leberzellen Mitochondrien durch Zentrifugieren anreichern und in so großer Menge gewinnen konnten, daß die Untersuchung mit makrochemischen Methoden möglich wurde. Nun ließ sich die hohe Enzymaktivität der Chondriosomen nachweisen. Allgemein bekannt sind die reichen Ergebnisse der enzymphysiologischen Untersuchung, die mit Material arbeitet, welches nach Homogenisierung und differentieller Zentrifugierung gewonnen wird (Literatur bei Frey-Wyssling 1953, Steffen 1956).

Freilich hat sich ergeben, daß die Chondriosomen in allen Homogenisierungsmedien (wiewohl statt Wasser bald isotonische Salz- oder Zuckersolution Anwendung fand) Veränderungen erleiden, die zu „Degradierungs-

formen“ führen. Auf solche bezogen sich viele von den elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Zoologen und Mediziner. Die Chondriosomen „sind nur im cytoplasmatischen Milieu existent und entziehen sich nach den heute verwendeten Isolierungsmethoden einer cytomorphologisch und physiologisch einwandfreien Trennung vom Cytoplasma“ (Perner und Pfefferkorn 1953, S. 127). Die intravitale cytologische Untersuchung hat aber mit der enzymchemischen nicht ganz Schritt gehalten und die Befunde an lebendem intaktem Chondriom sind noch nicht allzu zahlreich.

Die bekannten Ergebnisse vitaler und supravitaler Färbung dienen zwar der elektiven Darstellung und Sichtbarmachung des Chondrioms in der Zelle, ersetzen aber doch nicht die Vitalbeobachtung der unveränderten Organellen, wie sie heute der Phasenkontrast ermöglicht.

Wir machten unsere Beobachtungen im Winter und Vorfrühling 1956/57 mit dem Zeißschen Phasen-Neofluar (Immersion 100fach) am W-Stativ. Außerdem stand eine Reichertsche Phasenkontrasteinrichtung seit mehreren Jahren zur Verfügung.

Die im folgenden mitgeteilten Versuche wurden zum Hauptteil in der Zeit vom 7. Februar bis 5. April 1957 an ruhendem Zwiebelmaterial von *Allium cepa* angestellt. Ihr Ziel war vor allem ein Vergleich der vitalen Quellbarkeit des Chondrioms mit der des Cytoplasmas und des Zellkerns. Die Ergebnisse der chemischen Analyse der Mitochondrienphase aus Homogenisaten und die Angaben über den Anteil von Lipoiden, Proteinen und Nucleinsäure sind ja bisher doch so wenig einheitlich, daß für den Vergleich von Chondriom und Grundcytoplasma die Untersuchung einer physikochemischen Eigenschaft, wie es die Quellbarkeit ist, von Wert sein dürfte.

Daneben sollen einige andere mit dem Phasenkontrast erzielte Beobachtungen am Zwiebelprotoplasten, soweit sie uns neu waren, Erwähnung finden.

II. Versuche

Wir verwendeten die Innenepidermiszellen der zweit- oder dritt-äußersten lebenden Schuppen ruhender Küchenzwiebeln, dazu auch die der Untersuchung im Phasenkontrast etwas schwerer zugänglichen Zellen der Außenepidermis.

Die Innenepidermen enthalten bekanntlich im Grundcytoplasma dreierlei wohl gekennzeichnete, der lichtmikroskopischen Untersuchung zugängliche Inhaltskörper: Plastiden, die früher als Leukoplasten bezeichnet wurden, heute aber mit Strugger (1954 f.) als — hier im Dauergewebe persistierende — Proplastiden bezeichnet werden dürfen, die bekannten Sphärosomen und die Mitochondrien verschiedener Form. (Dazu kommen die nur elektronenmikroskopisch darstellbaren, jüngst von Strugger (1957) nachgewiesenen Asteroiden, Fasciculae und Cytonemata.)

Die ersten Beobachtungen im November und Dezember 1956 an winterlichem Zwiebelmaterial zeigten uns, daß die Sphärosomen — in bekannter Weise — vom strömenden Plasma stets lebhaft bewegt werden; dagegen waren die Chondriosomen, von schwacher oder schwächster BMB abgesehen,

größtenteils in Ruhe, nur einzelne waren ins strömende Plasma geraten. Die spärlichen, viel größeren Proplastiden ruhten alle.

Das unterschiedliche Verhalten ist wohl durch die Lage in verschiedenen Plasmaschichten begründet. Beispiele protoplasmatischer Schichtung sind dem Zellphysiologen wohl bekannt. Wir hatten den Eindruck, daß die Sphärosomen einer Innenschicht des Cytoplasmas angehören und die Chondriosomen einer minder beweglichen, weiter nach außen gelegenen Schicht (aber natürlich noch nicht dem Plasmalemma), während die großen Proplastiden, die in der Regel in Ruhe bleiben, in der Außenschicht verankert sind. Bei zahlreichen, später im Winter und Frühjahr verwendeten

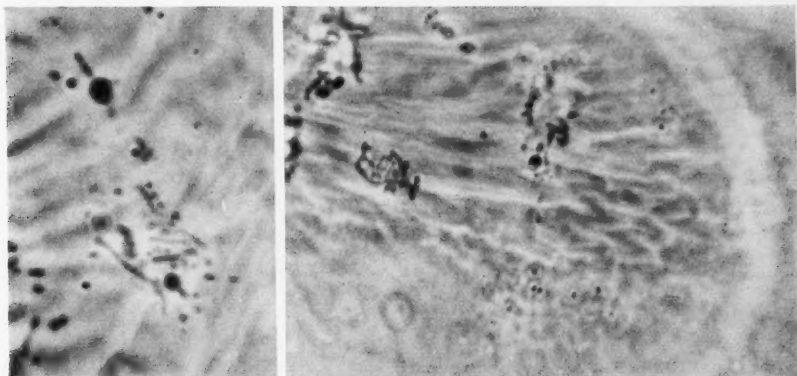


Abb. 1.

Zwiebeln, die nach diverser Vorbehandlung stärkere Strömung aufwiesen, waren Unterschiede ähnlicher Art sichtbar, doch wurde oft ein größerer Anteil der Chondriosomen vom strömenden Plasma mitgeführt.

Daß das Chondriom in verschiedenen Exemplaren und wohl auch in verschieden situierten Schuppen derselben Zwiebel sich in ungleicher Menge findet, ist bekannt. Wir haben daher die Zwiebeln für unsere Versuche aus größerem Material ausgewählt.

Die Chondriosomen von *Allium cepa* zeigen verschiedene Form. Sie sind oval, sphärisch kokkenartig, hantel- oder stäbchenförmig. Perner und Pfefferkorn (1953, S. 101) fanden bei ihrem Material das Chondriom „zu ungefähr 30% aus sphärischen, kokkenförmigen Chondriosomen (0,6–1,2 μ Durchmesser), zu etwa 10% aus hantelförmigen (2–4 μ lang), zu etwa 50% aus stäbchenförmigen Chondriosomen (2–4 μ lang) und zu etwa 10% aus langen fadenförmigen Chondriosomen“ bestehend. — Es fiel uns in unseren Präparaten immer wieder auf, daß nicht etwa in einer Zelle verschiedene Formen in gewissem Prozentanteil auftraten, sondern daß jeweils gewisse Formen vorherrschten oder fast allein vorhanden waren; so sehr oft die rundlich-ovalen, recht häufig aber auch die hantel- bis stabförmigen.

Eindrucksvoll ist die Flexilität der langgestreckten Chondriosomen (die wir in unseren Protokollen mit dem in der französischen Literatur üblichen

Ausdruck als „Chondriokonten“ bezeichneten). Geraten diese in strömende Plasmastränge, so werden sie bogig eingekrümmt oder nahezu hufeisenförmig eingebogen. Wenn die Bewegung stockt oder sie in breitere Plasmamassen geraten, so strecken sie sich wieder gerade. Sie sind flexibel und verhalten sich der Einbiegung gegenüber wie elastische Körper. Darüber wird im Schrifttum des öfteren berichtet.

Neu dürfte indes unsere wiederholt gemachte Beobachtung sein, daß das Chondriom sich nach Plasmolyse sehr oft zu dichten Gruppen ansammelt. Bei solcher Systrophe liegen aber die Chondriosomen immer flächig nebeneinander und nicht mehrschichtig übereinander (vgl. die Photos in Abb. 1 und die Zeichenskizzen in weiteren Abbildungen). Es steht dies im Einklang mit der Vorstellung, daß das Chondriom einer äußeren Plasmaschicht angehört und in dieser verharzt, auch wenn die Hauptmasse des Cytoplasmas sich in bekannter Weise systrophisch zu Klumpen sammelt, die vom Wandbelag weit in das Zellinnere einspringen können (vgl. Küster 1910, 1929, 1956, Germ 1952/53, Lanz 1942, Germ und Kietreiber 1956).

Bei den Plasmolyseversuchen wurde die Innenepidermis entlüftet, es wurden Schnitte im Phasenkontrast in dest. H_2O besehen und Schwesterspräparate in die reinen, Kappenplasmolyse bewirkenden KNO_3 - oder KCl -Lösungen von 0,6 mol gebracht, meist auch Kontrollen mit knapp hypobis isotonischen oder plasmolisierenden Lösungen von Traubenzucker behandelt und nach gewisser Zeit darin untersucht.

Kappenplasmolyse wird bekanntlich an geeignetem Zwiebelmaterial durch reine K -, Na -, Li -Salze hervorgerufen, während Salze der Erdalkalien und auch Lösungen der meisten unschädlichen Nichtleiter in gleichen Zellen bloß normale Plasmolyse bewirken (Höfler 1928, 1939, Kaiserlehner 1939, Houska 1941). Aber nicht alle Zellen des gleichen Schnittes zeigen Kappenplasmolyse, sehr oft tritt Zonierung des Plasmolysebildes auf (Höfler 1934, vgl. Strugger 1949, S. 114, Abb. 82). Man unterscheidet dann nach Salzeinwirkung Zellen mit normaler Plasmolyse und leicht salzgequollenem Plasma und Zellen mit typischer Kappenplasmolyse und stark gequollenem Plasma. In ersteren ist Strömung noch vorhanden, in den letzteren fehlt sie — auch wenn die Zellen leben, die Alkalisalzquellung noch reversibel ist und das Plasma nach Überführung in $CaCl_2$ -Lösung oder äquilibrierte Mischlösung entquillt und dann neuerlich Strömung zeigen kann; man sprach mit gewissem Recht von einer Salznarkose des lebenden Kappenplasmas.

Wir bringen einige Protokollauszüge:

Zwiebel F wurde am 15. Februar 1957 untersucht. Die Innenepidermis zeigt, frisch in Wasser besehen, die typisch breitovale Chondriosomenform. Es herrscht lebhafte Plasmaströmung. Die Sphärosomen sind zahlreich und typisch. Die Chondriosomen sind etwas dicker als gewöhnlich, aber dunkelgrau im Phasenkontrast. Sie schwimmen großenteils in den Plasmaströmchen mit, liegen also im bewegten Plasma, nicht in der ruhenden Wandplasmaschicht. Sie werden allerdings von den Sphärosomen manchmal überholt.

Zwiebel G, am 22. Februar untersucht, zeigt in H_2O schöne, lang stabförmige „Chondriokonten“. Sie strömen langsam. Die Sphärosomen strömen schnell. Jene

scheinen einer mehr außen liegenden Plasmaschicht eingebettet zu sein. Eiförmig-rundliche Chondriosomen fehlen. Gleiche Präparate verweilen einen Tag lang in 0,6 mol KNO_3 . Alle Zellen leben, Systrophen, keine Kappen, strömende Plasmastränge. Unveränderte Sphärosomen und stäbchenförmige bis spatelige Chondriosomen (vgl. Abb. 2).

Kontrolle ebensolange in 0,7 mol Traubenzucker plasmolysiert, Plasmaströmung, Chondriosomen normal verblieben.

Desgl. in 0,4 mol Traubenzucker. Schwache Plasmolyse, keine Strömung, Chondriosomen z. T. in BMB.

Hier ist zunächst bewiesen, daß die Chondriosomen bei K-Salzplasmolyse im leicht gequollenen Plasma persistieren, der Versuch sagt aber noch nichts darüber aus, welches Schicksal sie im stark gequollenen Kappenplasma haben.

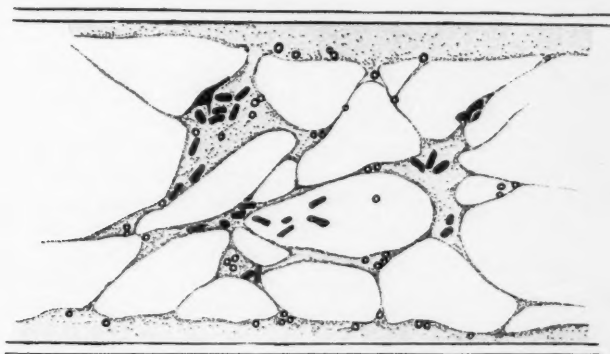


Abb. 2.

Wir schließen gleich einen späteren, mit entsprechend bereicherter Erfahrung angestellten Versuch an. Zur Plasmolyse wurde KCl verwendet, das für das Zwiebelplasma noch etwas unschädlicher ist als KNO_3 .

Zwiebel K, am 27. bis 29. März untersucht.

a) In H_2O entlüftet, nach 5 Stunden untersucht. Sphärosomen strömen, Proplastiden mit Primärgranen in Ruhe, im hypotonischen Medium leicht abgekugelt, Chondriosomen, der Außenschicht eingebettet, zeigen nur zum Teil schwache BMB.

b) Desgl., 5 Stunden in 0,4 mol Traubenzucker. Lebhaftes Plasmaströmung, in den Strängen bewegen sich nur Sphärosomen, im Wandbelag sieht man schmale Chondriosomen.

c) In 0,6 mol KCl seit 9 Uhr, ab 14.07 Uhr untersucht. Die Mehrzahl der Zellen hat scharfe Systrophe, der Plasmaklumpen leuchtet im Dunkelfeld auf; fast alles Plasma ist systrophisiert, den scharf gezeichneten Plasmalemmen liegt nur eine dünne Plasmaschicht an. Meist zeigen die Menisken einfache Kontur, nur wenig Zellen zeigen Kappenplasmolyse. Eine solche Zelle mit ziemlich schmaler Plasmakappe wird im Phasenkontrast bei starker Vergrößerung (ca. 2000fach) eingestellt. — Man sieht reichlich schöne, rundliche, dunkle Chondriosomen. Gegenüber den normalen Protoplasten der Kontrollen fällt auf, daß sich auch die Chondriosomen in lebhafter BMB befinden. Keine Plasmaströmung. Von der Schichtung ist nichts erhalten, alle Chondriosomen zeigen BMB. Zwischen den Chondriosomen liegen

zwei große Proplastiden. Mäßig zahlreiche Sphärosomen tanzen in BMB, und zwar deutlich schneller als die Chondriosomen. — In der Nachbarschaft verhielten sich Zellen mit Kappenplasmolyse ähnlich. In einer sind die Chondriosomen samt den Sphärosomen aus dem Raum zwischen Tonoplast und Plasmalemma herausgequetscht und daher am basalen Saum der Kappe angereichert, vgl. Abb. 3. Es liegt hier eine Kappe vor, in der das Plasma erst schwach an Viskosität abgenommen hat; schöne Systrophe, aber keine Strömung mehr. — Die Beobachtung wird fortgesetzt. Um 14.50 Uhr wieder ein solcher Saum am Innenrand einer Kappe eingestellt; die zahlreich angesammelten Chondriokonten wackeln nur, die Sphärosomen wimmeln in BMB lebhafter, kleinere Mikrosomen bewegen sich mit großer Amplitude.

d) Neues Präparat um 16 Uhr auf 0,6 KCl aufgesetzt, nach 17 Uhr wieder untersucht. Das Bild zeigt, was auch sonst beobachtet wurde, daß es außer den Sphärosomen auch Kleinmikrosomen gibt, die aber lichtmikroskopisch sichtbar und somit noch keine „Meiosomen“ (Höfler 1957) sind.



Abb. 3.

Der Versuch bringt die Antwort auf die eingangs gestellte Frage. Er zeigt,

1. daß die Chondriosomen in salzgequollenen Plasma erhalten bleiben,

2. daß sie auch ihre Gestalt bewahren, d. h. sich nicht zu gebläht-kugeliger Form verändern.

3. Festzuhalten ist auch, daß hier bei echter, vitaler Kappenplasmolyse die oben beschriebene Schichtung des Cytoplasmas verlorengegangen ist. Im Kappenraum zeigen mehrfach die Chondriosomen so gute und starke BMB wie die Sphärosomen. Wenn beider Organellen ähnlich groß sind, ist auch die Amplitude etwa die gleiche. Es

hat sich also bei perfekter Kappenplasmolyse, wie sie uns vorlag, keine äußere Plasmaschicht mehr erhalten, worin die Chondriosomen in Ruhe verblieben wären. Auf Beobachtungen der Versuche vom März, die sich auf Tonoplast und Hechtsche Fäden beziehen, wird auf S. 317 zurückgekommen.

Die Zellen der Zwiebelaußenepidermis sind bekanntlich von denen der Innenepidermis in vieler Hinsicht verschieden (vgl. Reuter 1955). Nicht nur, daß bei Vitalfärbung erstere „volle“, die letzteren in der ruhenden Zwiebel „leere“ Zellsäfte zeigen; Differenzen bestehen auch im relativen spezifischen Gewicht des Plasmas gegenüber dem Zellsaft (Jungers 1934), in der Strahlenresistenz (Biebl 1942 a, b) u. a.

Kappenplasmolyse trat in unseren Versuchen, übereinstimmend mit vielen älteren Erfahrungen, in den Außenepidermiszellen viel besser und meist in allen Zellen eines Präparates ein, während in der Innenepidermis derselben Schuppen nach gleich langer Salzeinwirkung oft schon ein Teil der Zellen getötet oder beschädigt ist und bei den überlebenden nur normale Plasmolyse mit leicht salzgequollenem Plasma beobachtet wird. Vielfach war in der Innenepidermis schon Systrophe eingetreten und waren mächtig einspringende Plasmaklumpen ausgebildet, wenn die Außenepidermis der-

selben Schuppe allgemein Kappenplasmolyse mit gleichmäßig in den Menisken gesammeltem gequollenem Plasma und kugelkonvexe Tonoplasten zeigte.

Es war wünschenswert, auch in solchen Kappen der Außenepidermis das Chondriom zu untersuchen. Die Schwierigkeiten der Beobachtung im Phasenkontrast sind hier aber wesentlich größer. Neben der dickeren Zellwandung wirken zumal die antiklinen Zellwände des darunterliegenden Parenchyms störend (vgl. Perner und Pfefferkorn 1953, S. 100).

Immerhin ist es uns mehrmals gelungen, Kappenzellen der Außenepidermis der Beobachtung im Phasenkontrast zugänglich zu machen.

Zwiebel F, 15. Februar (vgl. S. 310). Außenepidermis in Wasser beobachtet. Man sieht kleine, eiförmige Chondriosomen und größere, gestreckt gebogene, die stellenweise angeschwollen sind. Das Bild spricht dafür, daß es Übergänge gibt. Die eiförmigen sind in Ruhe, die spärlichen Sphärosomen daneben in BMB. Jene müssen also fest im äußeren Plasma liegen, welches ziemlich viskos sein muß. Bei einigem Suchen finden sich aber doch auch Chondriosomen mit schwacher BMB. Die Proplastiden, die hier zahlreicher als in der Innenepidermis sind und an den Enden vielfach die bekannten blasenartigen Erweiterungen haben, zeigen keine BMB. Gleiches Präparat, seit 9.30 Uhr in 0,6 mol KNO_3 , seit 11.15 Uhr eingeschlossen, von 12 Uhr bis 14.50 Uhr untersucht.

In den bekannten Plasmaballen, die durch Abschnürung der „Plasmaraketen“ (Küster 1926, Giecklhorn 1932) in den Zellsaft geraten sind, liegen massenhaft Sphärosomen in starker BMB, aber keine Chondriosomen. An ersteren erkennt man das Plasma und unterscheidet es von abgeschnürten Teilvakuolen. Im Wandbelag liegt hingegen eine „Chondriosomenansammlung“, ein Stück entfernt davon in derselben Kappenzelle eine zweite (vgl. Abb. 4a). Zwischen vielen grauen Chondriosomen gibt es hier wenig stark wimmelnde Sphärosomen, dazwischen liegt ein rundliches Proplastid.

Es verquellen also die Chondriosomen bei Kappenplasmolyse nicht. Der gequollene Zellkern liegt seitlich, der Tonoplast biegt

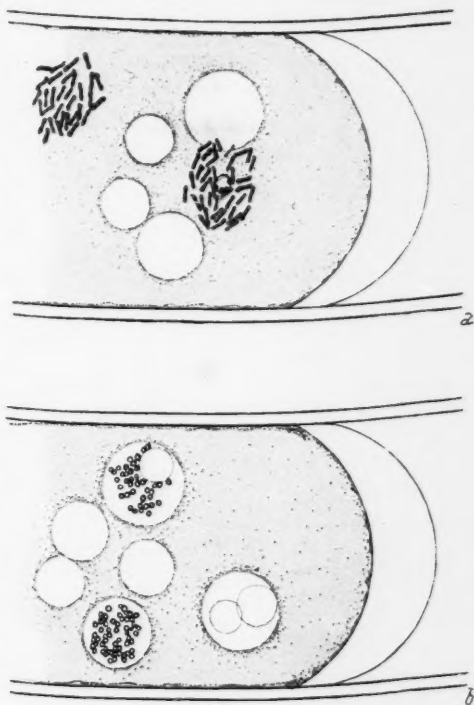


Abb. 4.

um ihn aus. In der Plasmaansammlung darüber liegen Chondriosomen in BMB. Abgeschnürte Plasmakugeln im Zellsaft sind voll wimmelnder Sphärosomen (Abb. 4 b).

Zwiebel G, 22. Februar. Seit 23 Stunden in 0,6 mol KNO_3 . In einer breiten Kappe noch BMB. Die Zelle lebt und zeigt das Bild reversibler Kappenplasmolyse. Man sieht Sphärosomen, die sich noch in BMB bewegen. Da alles Plasma zu einseitiger Kappe gesammelt ist, erreicht diese fast ein Drittel der Zellbreite. In einer Nachbarzelle ein Protoplast mit zweigeteilter Hauptvakuole und Teilvakuolen; Plasma zwischen diesen sicher intakt. Man sieht hier deutlich unveränderte Chondriosomen im vital gequollenen Plasma. — Abb. 5 zeigt ein Präparat aus derselben Zwiebel nach kürzerer (5stündiger) KNO_3 -Einwirkung.

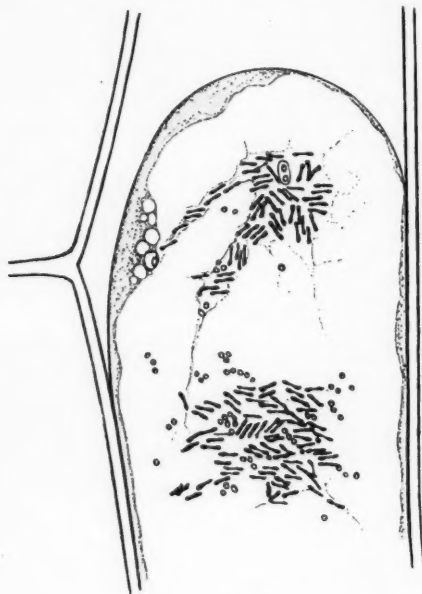


Abb. 5.

Hier ist bewiesen, daß die stäbchenförmigen Chondriosomen im salzgequollenen Plasma erhalten bleiben. Durch unsere Zeichnungen wird auch belegt, daß das Chondriom auch da seine natürliche Form und Größe bewahrt hat, wo der Zellkern die für Kappenplasmolyse typische mächtige Aufquellung, verbunden mit glasig durchscheinendem Zustand, zeigt.

Die Feststellung ist wichtig für die theoretische Verwertung unseres Befundes bezüglich des relativen Quellvermögens der Protoplastenkomponenten.

Strugger (1930, 1932) und Bancher (1938) haben die kolloidalen Veränderungen studiert, welche die Zellkerne bei der Einwirkung reiner Alkalisalzlösungen (KCNS , KNO_3) erleiden. Die einzelnen Salzkonzentrationen bewirken charakteristische Veränderungen des Kernbildes (Strugger 1932, Abb. S. 29) und der jeweilige Aggregatzustand der Kerne, ob

sol- oder gelartig, läßt sich durch mikrurgische Anstichversuche (Bancher l. c., S. 305) ermitteln. So läßt der Zustand der glasig-gequollenen Zellkerne darauf schließen, daß bei perfekter Kappenplasmolyse mindestens 0,2 bis 0,3 mol KNO_3 oder KCl in den Kappenräumen zugegen sind. Diese Konzentration wird auch auf die Chondriosomen einwirken. Trotzdem erfahren diese keine Aufquellung oder nur eine ganz schwache, jedenfalls keine, die der von Kern oder Plasma irgend gleichkäme.

Unentschieden bleibt dabei vorläufig, ob die Grenzschicht der vitalen Chondriosomen für das Salz undurchlässig bleibt oder ob das Salz eindringt, aber die Substanz im Innern der Chondriosomen — infolge ihrer von Kern und Plasma abweichenden Zusammensetzung — nicht zur Aufquellung bringt. Im ersten Fall müßte die Chondriosomenmembran

schwerer durchlässig sein als die Kernmembran; das ist aber angesichts des elektronenmikroskopisch nachgewiesenen Baus, der Durchlöcherung der Oberfläche durch die cristae mitochondriales (Palade 1953, vgl. Mühlenthaler 1955, Frey-Wyssling 1955, Bancher und Höfler 1958) unwahrscheinlich. Mangelnde Quellbarkeit der Binnensubstanz der Chondriosomen ist wahrscheinlicher¹.

Im Schrifttum sind oft die Veränderungen behandelt worden, die das Chondriom in den Homogenisaten erleidet. Ihr Erhaltungszustand ist von der Art der Zellertrümmerung, vom angewandten Medium, von der Zeitdauer der Einwirkung desselben und der Temperatur abhängig. Im hypotonischen Medium quellen sie unter Wasseraufnahme. Man hat sich daher auf zoologischer Seite um Verbesserung des Einbettungsmediums bemüht; als solches wurden u. a. kalte, neutral gepufferte, isotonische oder schwach hypertonische KCl- oder Zuckerlösungen verwendet. — Aber Perner hat, wie schon erwähnt, mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß auch das beste und bestisotonische Einbettungsmedium das natürliche cytoplasmatische Milieu nicht ersetzen kann. Nur in diesem bleiben die Chondriosomen wirklich intakt, und zwar — wie nun gezeigt — auch dann, wenn das umgebende Plasma eine starke, aber vital-reversible Aufquellung und Viskositätsverminderung in der reinen, nicht durch Ca äquilibrierten K-Salzlösung erfahren hat.

Perner und Pfefferkorn (1953, S. 113) haben weiter die Veränderungen untersucht, welche eintreten, wenn die Zwiebelzellen verwundet und die Chondriosomen freigelegt werden. Es erfolgt eine „Degradation“. Nach ihrer Isolierung (in 0,88 mol Glukose bei pH 6,8 und 50°C) zeigen die degradierten Chondriosomen ein körnig-granuläres Aussehen (l.c., S. 113, Abb. 8, 9). Nach längerer Beobachtungszeit von etwa 20 Minuten (bei 20°C bereits nach 5 Minuten) verändern sich die Nekroseformen weiter. Es ist dann im Inneren eine wässerige, helle, kontrastlose Vakuole zu beobachten, während ein dunkel kontrastierter Entmischungskomplex einseitig der Grenzschicht anliegt. So entstehen „napfförmige“ Degradationsformen, die pyknotischen Zellkernen ähneln. Nach weiteren 15–20 Minuten verlieren die Napfformen ihren Phasenkontrast und es bleiben nur hyaline, kontrastlose Bläschen übrig.

Wir haben in erster Orientierung die Veränderungen des Chondrioms unserer Versuchszellen bei gewaltsamer Tötung mit chemischen Agenzien untersucht.

Normale Präparate der Innenepidermis in H₂O werden im Phako eingestellt. Die Chondriosomen werden von der Plasmaströmung langsam bewegt. Wird nun 96%iger Alkohol durch das Präparat gesaugt, so kommt in randnahen Zellen die Plasmaströmung nach einer Minute zum Stillstand; die früher mit der Strömung bewegten Sphärosomen zeigen noch BMB, die aber langsam erlischt. Die Chondriosomen werden nach 3 Minuten etwas größer, sie runden sich ab und der Phasenkontrast wird schwächer.

¹ Taft und Levitt (1957) zeigen allerdings, daß Chondriosomen aus Kartoffelzellen, in K₂HPO₄ + Ascorbinsäure freipräpariert, in hyper- und hypotonischen Zuckerlösungen rasche osmotische Kontraktionen und Schwellungen ausführen.

Nach 4 Minuten beginnen sich die jetzt runden Chondriosomen zu vakuolisieren, werden noch ein klein bisschen größer und zeigen helle Höfe. Ein vordem gestrecktes Proplastid wird gleichfalls rund und blaß. Die Sphärosomen sind erhalten, aber völlig in Ruhe. Weiter werden aus den Chondriosomen „Ringlein“, die den von Perner beschriebenen, napfförmigen Degradationsformen sehr ähnlich sind. Nach 7 Minuten verlieren diese Ringlein ihre Gestalt, werden eckig und koagulieren ganz unregelmäßig. In weiter innen gelegenen Zellen, wo anscheinend der Alkohol noch nicht zgedrungen ist, beobachtet man noch nach 8 Minuten Strömung.

Durch ein gleiches Präparat der Innenepidermis wird ferner eine Lösung von 0,6 mol KCNS hindurchgesaugt. Das Rhodanid bewirkt auch Plasmaaufquellung und Kappenplasmolyse im morphologischen Sinn, aber es schädigt und tötet das Binnenplasma ungleich rascher als KCl oder KNO_3 .

5. April 1957, Präparat vom Innenhäutchen der zweiten lebenden Schuppe um 8.40 Uhr angefertigt, in Wasser beobachtet, Zustand normal.

Ab 8h 55' wird laufend 0,6 mol KCNS durchgelaugt. Zellen, die zwei bis drei Reihen vom Längsrand entfernt liegen, werden eingestellt.

8h 56' Plasmaströmung noch vorhanden, alles normal.

9h 00' 30'' Die Strömung hört auf. Plasmolyse tritt ein, wobei das Plasma sogleich aufquillt. Organellen noch normal, in schwacher BMB.

9h 04' Starke Plasmolyse, der Protoplast hat sich allseitig abgehoben, das Plasma ist allseits gequollen.

9h 05' In einer randnäheren Zelle ist der Protoplast abgerundet. Plasma gequollen. Chondriosomen, Sphärosomen und Plastiden sehen noch normal aus, die beiden ersteren zeigen schwache BMB.

9h 08' Im allseits gequollenen Plasma sind die Organellen noch erhalten.

9h 10' Die Chondriosomen sterben ab. Sie wandeln sich unter Abrundung zu „Ringlein“ (Näpfchen nach Perner), ähnlich wie im Alkoholversuch. Die Ringlein sind also die übliche Nekroseform. Die Plastiden sind noch annähernd normal, die Sphärosomen ganz normal, überall schwache BMB.

9h 11' Jetzt allgemein Ringlein. Plasma gequollen, Plasmolyseform aber noch ganz gut.

9h 12' Weiter innen in einer Zelle noch ein paar Chondriosomen erhalten.

9h 18' Bild hier ähnlich, doch allgemein Ringlein; Sphärosomen noch normal.

9h 19' Allgemein Ringlein, nur in wenigen Zellen innen auch noch Chondriosomen von normalem Aussehen.

Ab 9h 29' wird H_2O durchgesaugt, um die Deplasmolysefähigkeit zu prüfen. Keine Rückdehnung mehr, das Plasma stirbt sofort ab (oder es war meist schon tot). Der Tonoplast bleibt wenige Sekunden erhalten, platzt dann aber, zieht sich in ein Stück zusammen und verschwindet. Wieder bleiben die Sphärosomen erhalten. Die „Ringlein“ (nekrotischen Chondriosomen) werden zunehmend undeutlicher, sie koagulieren z. T. in ähnlicher Weise wie im Alkoholversuch.

9h 58' Alles tot.

Die Chondriosomen unseres Materials, die bei echt vitaler Kappenplasmolyse unverändert persistieren, zeigen also bei schädigend-experimentellen Eingriffen eine rasche Degradation und Nekrose.

Schließlich seien noch einige Beobachtungen, die sich nicht auf das Chondriosom als solches beziehen, erwähnt.

Was zunächst die Sphärosomen betrifft, so fanden wir sie sehr resistent experimentellen Einwirkungen gegenüber und stets wesentlich resistenter als die Chondriosomen. Sie bleiben vielfach auch im absterbenden und nekrotischen Cytoplasma zunächst in ihrem optischen Verhalten unverändert. Bei Dunkelfeldbeobachtung leuchten sie im koagulierten Protoplasma oft genau so prächtig wie vorher im lebenden. Eine Aufquellung erfahren sie niemals². Wir gehen auf ihr Verhalten hier nicht näher ein.

Isolierte, überdauernde Tonoplastenmembranen zeigen keinen oder fast keinen Phasenkontrast. Auch im Dunkelfeld bleiben übrigens die Tonoplasten dunkel, während anliegendes koaguliertes Plasma in bekannter Weise aufhellt, die in ihm beschlossenen Sphärosomen grell aufleuchten.

Beachtenswert ist endlich das Bild, welches Hechtsche Fäden im Phasenkontrast bieten.

Sie wurden an einem Präparat aus einer Zwiebelschuppe beobachtet, die in 0,6 mol KCl entlüftet und dann 14 Stunden darin aufbewahrt worden war; die Plasmolyse tritt auf solche Art ganz langsam ein. Ein Stück der Innenepidermis wurde abgezogen und auf den Objektträger gebracht. Viele Zellen zeigten gute Plasmolyse und im salzgequollenen Plasma wohl-erhaltene Chondriosomen. Bei anderen Protoplasten hellte der plasmatische Inhalt der Kappenräume im Dunkelfeld bereits auf und ließ im Phasenkontrast keine Chondriosomen mehr erkennen. Doch waren Hechtsche Fäden erhalten, die die Protoplasten mit den Zellwänden verbanden. Ein solcher, der von der Mitte des Plasmameniskus zur Zellecke ging, hatte ungefähr die Länge der Zellbreite; der Faden war nicht mehr ganz straff gespannt und zeigte im mittleren Teil leichte Brownsche Undulation; er war ungleich dick, ganz dünn im ersten Drittel am Protoplasten, weiter gegen die Mitte nahm er an Dicke ein wenig zu. Hier sah man im Faden aufgereihte, dunkle, fast schwarze Kügelchen von zunehmender Größe. Sie waren durch Zwischenräume getrennt, die etwa dem Durchmesser der Kügelchen oder zwei Drittel davon gleichkamen. Die Größe der Kügelchen nahm mit der Dicke des Fadens stetig zu. Der Faden gabelt sich in drei Fünftel seiner Länge, unweit der Gabelstelle zeigt der eine Faden noch ein größeres, darüber zwei ganz kleine Kügelchen. Der weitere Fadenteil und der zweite dünnere Faden sind von Kügelchen frei.

Der Phasenkontrast macht hier mit einer Entmischung im Plasma der Hechtschen Fäden bekannt. Die Erscheinung ist von Interesse, da die Fäden, gleich den Verbindungssträngen plasmolysierter Teilprotoplasten, im frischen Zustand elastische Eigenschaften besitzen, die auf einem gegen-

² Nach Kuttig, (1957, S. 576) ist die Größenzunahme, die die Sphärosomen fluoreszenzmikroskopisch oft zeigen, eine scheinbare: „je stärker ein Körperchen fluoresziert, desto größer erscheint es...“

über dem Mesoplasma erhöhten Gehalt in Eiweißfadenmolekülen beruhen dürften.

Wir danken Herrn Dr. A. Diskus herzlich für die Anfertigung der Zeichnungen.

Zusammenfassung

Die Chondriosomen bleiben bei vital-reversibler Kappenplasmolyse nach Form und Größe unverändert erhalten. Sie verquellen nicht, wenn Cytoplasma und Zellkern auf ein Vielfaches ihres Ausgangsvolumens aufquellen, und sind somit in ihrem Hydratationsvermögen vom Plasma, dem sie eingebettet sind, stark verschieden.

Nach systrophischer Plasmasammlung liegen die Chondriosomen stets flächig nebeneinander, nicht mehrschichtig übereinander (Abb. 4, 5). In der intakten *Allium*-Zelle strömen sie meist langsamer als die Sphärosomen. Sie scheinen einer weiter nach außen gelegenen Plasmaschicht anzugehören.

Literatur

- Altmann, R., 1890: Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. Leipzig.
- Bancher, E., 1938: Mikrochirurgische Kernstudien. *Protoplasma* 31, 301.
- und K. Höfler, 1958: Pflanzenzelle und Cytoplasma. Grundlagen der Vitalchemie, hgg. von H. Linser. Bd. VI.
- Benda, C., 1898: Über die Spermatogenese der Vertebraten und höherer Evertbraten. Verh. d. Physiol. Gesellsch. zu Berlin. 1897/98.
- Bensley, R. R., and N. L. Hoerr, 1934: Studies on the cell structure by the freezing-drying method. VI. The preparation and properties of mitochondria. *Anat. Rec. (Am.)* 60, 449.
- Biebl, R., 1942 a: Wirkung der UV-Strahlung auf *Allium*-Zellen. *Protoplasma* 36, 491.
- 1942 b: Wirkung der UV-Strahlen auf die Plasmapermeabilität. *Protoplasma* 37, 1.
- Frey-Wyssling, A., 1955: Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. *Protoplasmatologia*, Band II, A 2.
- Germ, H., 1952/53: Untersuchungen über die systrophische Inhaltsverlagerung in Pflanzenzellen nach Plasmolyse. I—III. *Protoplasma* 14, 566, 17, 509, 18, 260.
- und M. Kietreiber, 1956: Vitale Entmischung des Cytoplasmas von Cyclamen. *Protoplasma* 46, 225.
- Gicklhorn, J., 1952: Intrazelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. *Protoplasma* 15, 90.
- Höfler, K., 1928: Über Kappenplasmolyse. Ber. dtsh. bot. Ges. 46, (73).
- 1952: Vergleichende Protoplasmatik. Ebenda 50, (53).
- 1954: Kappenplasmolyse und Salzpermeabilität. *Mikrosk.* 51 (Festschr. E. Küster), 70.
- 1959: Kappenplasmolyse und Ionenantagonismus. *Protoplasma* 33, 545.
- 1957: Mikrosomen und Meiosomen. Ebenda 48, 167.
- Houska, H., 1941: Beiträge zur Kenntnis der Kappenplasmolyse. *Protoplasma* 36, 11.
- Jungers, V., 1934: Die Verlagerungsfähigkeit des Zellinhaltes der Zwiebelstuppen von *Allium cepa* durch Zentrifugierung. *Protoplasma* 21, 351.

- Kaiserlehner, E., 1939: Über Kappenplasmolyse und Entmischungsvorgänge im Kappenplasma. *Protoplasma* 33, 579.
- Küster, E., 1926: Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. *Protoplasma* 1, 73.
- 1935: Die Pflanzenzelle. I. Aufl. G. Fischer, Jena.
- 1956: Desgl. III. Aufl. G. Fischer, Jena.
- Küttig, W., 1957: Weitere Beiträge zur Fluorochromierung der Sphärosomen pflanzlicher Zellen mit basischen Farbstoffen. *Protoplasma* 48, 562.
- Lanz, I., 1942: Neue Beiträge zur Kenntnis der Systrophe des Protoplasmas. *Protoplasma* 36, 381.
- Mühlethaler, K., 1955: Untersuchungen über die Struktur und Entwicklung der Proplastiden. *Protoplasma* 45, 264.
- Palade, G. E., 1953: An electron microscope study of the mitochondrial structure. *J. Histochem. Cytochem.* 1, 188.
- Perner, E. S., 1953: Die Sphärosomen (Mikrosomen) pflanzlicher Zellen. *Protoplasma* 42, 457.
- — und G. Pfefferkorn, 1953: Pflanzliche Chondriosomen im Licht- und Elektronenmikroskop unter Berücksichtigung ihrer morphologischen Veränderung bei der Isolierung. *Flora* 140, 98.
- Reuter, L., 1955: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. *Protoplasmatologia*, Band XI/2.
- Steffen, K., 1955: Chondriosomen und Mikrosomen (Sphärosomen). *Ruhlands Handbuch d. Pflanzenphysiologie* I, 574.
- Strugger, S., 1930: Beiträge zur Kolloidchemie des pflanzlichen Ruhekernes. *Protoplasma* 10, 365.
- 1932: Über Plasmolyse mit Kaliumrhodanid. *Ber. dtsch. bot. Ges.* 50, 24.
- 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. II. Aufl. Springer-Verlag.
- 1954: Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'Herit. *Protoplasma* 43, 120.
- 1957: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Strukturelemente des Cytoplasmas. *Ber. dtsch. bot. Ges.* 70, 91.
- Taft, D. L., and J. Levitt, 1957: Investigations of the cytoplasmic particulates and proteins of potato tubers V. Osmotic behavior of mitochondria. *Physiologia Plantarum* 10, 76.

Die Deutung der pseudotetraedrischen Kristalle von Calciumoxalat-Monohydrat in Pflanzenzellen

Von

H. v. Philipsborn und Renate Freiin v. Hodenberg

Aus dem Mineralogisch-petrologischen Institut der Universität Bonn

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. August 1957)

In Zellen der Blätter von *Atropa Belladonna*, *Solanum tuberosum*, *Sambucus nigra*, *Allium globosum*, *Aucuba japonica* u. a. kennt man Anhäufungen kleinster Kristalle, im botanischen Schrifttum „Kristallsand“ genannt. Schon 1874 schrieb J. Vesque „au moyen de forts grossissements on voit que cette poussière n'est pas amorphe, mais que les grains ont généralement une forme triangulaire (tétraédrique) plus ou moins régulière“. Aber erst 1952 wiesen unabhängig voneinander R. Honnegger und H. v. Philipsborn durch Debye-Scherrer-Röntgen-Diagramme nach, daß die pseudotetraedrischen Kristalle Calciumoxalat-Monohydrat (Whevellit) sind. R. Honnegger versuchte, die kristallographische Form der Pseudotetraeder zu bestimmen, eine Form, die bisher bei dem recht formenreichen Whevellit noch niemals beobachtet worden war, er kam aber zu keinem sicheren Ergebnis.

Die Schwierigkeit der Enträtselung liegt in der Kleinheit der Kristalle, durchschnittlich 2μ , nur sehr selten 6 bis 8μ , ganz vereinzelt bis 10μ . Deshalb hatten bis heute alle Versuche, durch Winkelmessen unter dem Mikroskop die Form zu deuten, keinen Erfolg. Es lag nahe, den neuen Universaldrehtisch (U-Tisch der Fa. Zeiss-Winkel, ausgerüstet mit stärkeren Objektiven als bisher für Arbeiten mit U-Tisch üblich, zur kristallographischen Bestimmung der so eigentümlichen Pseudotetraeder zu verwenden. Der U-Tisch ist ein Instrument der Kristallographen und Mineralogen, er wird auf dem Tisch eines Mikroskops montiert, hat mehrere Achsen ($A_1 =$ Mikroskopachse, A_2 bis A_4 , oder auch A_5), so daß sich ein kleiner Kristall in einem Objektträgerpräparat fast in jede gewünschte Lage bringen läßt und Winkel zwischen zwei Kristallkanten oder zwischen zwei Kristallflächen gemessen werden können.

Untersuchungsobjekt waren Kristalle aus den Blättern von *Atropa Belladonna*, isoliert und angereichert nach dem von H. v. Philipsborn (1952) angegebenen Verfahren, mit dem es leicht gelingt, so viel Material zu gewinnen, daß in ihm auch genügend der wenigen größeren Kristalle (6 bis 8μ) zu finden sind (s. Abb. 1). Die Messungen der Winkel und die Berechnung der Kristallformen wurden von R. v. Hodenberg (1956) ausgeführt. R. Honegger arbeitete ohne U-Tisch und konnte daher nur die Projektion der Kantenwinkel auf die Ebene senkrecht zur Mikroskopachse

messen, nicht die wahren Kantenwinkel. Mit U-Tisch lassen sich die wahren Kantenwinkel messen. Das zu vermessende Dreieck wird mit seiner längsten Kante (der besseren Beobachtungsmöglichkeit wegen) durch Drehen der A_1 -Achse parallel der Nord-Süd-Richtung des Fadenkreuzes eingestellt und so lange um die A_1 -Achse gekippt, bis beim Schwenken um die A_2 -Achse diese

Kante parallel dem Fadenkreuz bleibt. Die Kante befindet sich nun schon in einer Ebene senkrecht zur Mikroskopachse, während die angrenzende Fläche noch eine Neigung zu ihr besitzen kann. Schwenkt man jetzt um die A_2 -Achse, so sieht man deutlich ein Größer- oder Kleinerwerden der Dreieckswinkel. Zeigt der Winkel, welcher der langen Kante gegenüber liegt, sein Minimum (dann zeigen die beiden anderen Dreieckswinkel ihre Maxima), so liegt die Fläche in einer zur Mikroskopachse senkrechten Ebene, und es können durch Drehen um die A_1 -Achse die wahren Kantenwinkel gemessen werden. Die Überlegenheit des Arbeitens mit U-Tisch gegenüber dem mit schlichtem Mikroskop ist offensichtlich. Für die Winkelmessung derartig kleiner Kristalle, wie sie hier vorlagen, ist ein sehr exakt funktionierender Objektführer unentbehrlich, da schon ein Verschieben des Präparates während der Arbeit des Messens um 1 bis 2μ Messungen unmöglich macht. Die Fa. Zeiss-Winkel stellte uns einen noch in der Entwicklung stehenden Objektführer zur Verfügung. Voraussetzung zum Gewinnen auswertbarer Meßdaten ist ferner ein sehr sorgfältiges Justieren des U-Tisches.

Es wurden an den auf Objektträger unter Deckglas in Caedax eingebetteten Pseudotetraedern Winkel zwischen Kanten und Winkel zwischen Flächen gemessen, auch wurde die Lage der optischen Achsen im Pseudotetraeder bestimmt. Die Meßdaten wurden mit den aus dem sicher bekannten Achsenverhältnis des Whewellit (Kristallklasse monoklin-prisma-

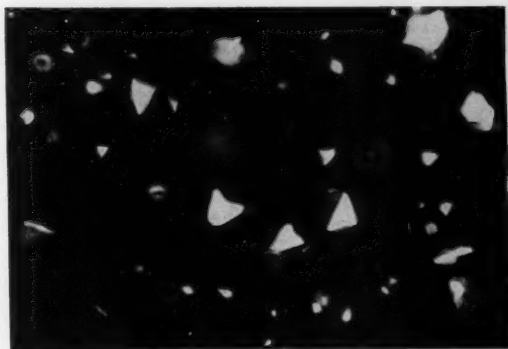
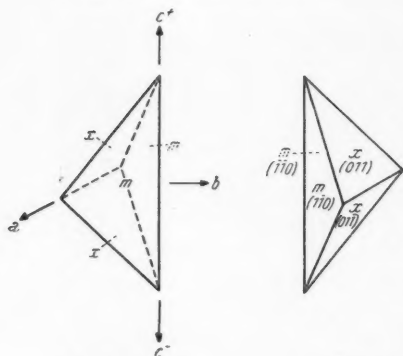


Abb. 1. + Nicol 800:1
Pseudotetraeder von Calciumoxalat-Monohydrat
(Whewellit), isoliert aus *Atropa Belladonna*.

tisch $a : b : c = 0,870 : 1 : 1,369$ $\beta = 107^\circ 18'$ errechneten Werten verglichen. Das Ergebnis war: Das Pseudotetraeder ist eine Kombination von je zwei Flächen der vierflächigen Form m (110) und der vierflächigen Form x (011). m (110) und x (011) gehören zu den häufigst beobachteten Formen des Whewellits, allerdings stets alle vier Flächen entwickelt. Bei der hier gefundenen Kombination mit nur je zwei Flächen von m und x sind zwei enantiomorphe Kombinationen, d. h. Rechts- und Linksformen möglich (s. Abb. 2). Ein Studium der Präparate in dieser Hinsicht zeigte,



Rechtsform

Linksform

Abb. 2. Pseudotetraeder des Calcium-oxalat-Monohydrats (Whewellit) aus *Atropa Belladonna*, gebildet aus m (110) und x (011) mit nur je zwei Flächen statt vier Flächen.

daß in der Tat beide Formen zu finden sind, und zwar in angenähert gleicher Zahl. Die aus dem Achsenverhältnis errechneten sechs verschiedenen Kantenwinkel und die zwei wichtigsten Flächenwinkel des Pseudotetraeders s. Abb. 3.

Die Kombination der vier Flächen von m (100) und der vier Flächen von x (011) zeigt Abb. 4. In Pflanzenzellen wurde diese Kombination bisher nicht beobachtet, aber A. Frey-Wyssling [1955, S. 156, Abb. 67 a] gewann sie synthetisch durch Fällen in stark verdünnter Salzsäure, bis zu 25μ groß in einer Ausbildung wie Abb. 4 b.

Das Auftreten der Rechts- und Links-Pseudotetraeder ist recht eigenartig, auch für den Kristallographen. Man kann sie nicht als verzerrte Aus-

bildung der vollflächigen Kombination (Abb. 4) deuten. Bei verzerrten Kristallen sind Flächen, die gleich groß sein müßten, weil sie zu einer einfachen Kristallform gehören, ungleich groß ausgebildet oder auch gar nicht vorhanden. Ein tafelig ausgebildeter Würfel wird verzerrt genannt. Verzerrungen werden auf ungleichmäßige Stoffzufuhr beim Wachsen zurückgeführt. Eine solche kann aber beim Wachsen der Kristallhaufen, alle Individuen mit gleicher Ausbildung, nicht angenommen werden. Die Whewellit-Pseudotetraeder lassen wie das echte Tetraeder und alle aus vier Flächen bestehenden geschlossenen Kristallformen eine Verzerrung nicht zu. Bei einer Parallelverschiebung seiner Flächen bleibt die ihm eigentümliche Gestalt erhalten.

Die Deutung der Pseudotetraeder als eine Habitusbildung stößt ebenfalls auf Schwierigkeiten. Im allgemeinen wird ein bestimmter Habitus durch Einwirken von Lösungsgenossen erzeugt (von Einfluß sind auch Temperatur und Druck). So bildet z. B. Natriumchlorid aus reiner wässriger Lösung Würfel, bei bestimmten Lösungsgenossen Oktaeder. Bei den Pseudotetraedern müßte man annehmen, daß die Lösungsgenossen nur jeweils zwei von vier Flächen einer und derselben einfachen Kristallform

Literatur

- Frey-Wyssling, A., 1935: Die Stoffausscheidungen der höheren Pflanzen. Berlin.
- Hodenberg, Renate Freiin v., 1956: Die Deutung der pseudotetraedrischen Whewellit-Kristalle, über Weddellit und das tetragonale Strontiumoxalat ($\text{SrC}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) und über Mischkristalle $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O} - \text{SrC}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$. Diss. Bonn.
- Honegger, R., 1952: Das Polyhydrat des Calciumoxalats, Diss. Zürich.
- Philipsborn, H. v., 1952: Über Calciumoxalat in Pflanzenzellen. Protoplasma 41, 416.
- 1954: Calciumoxalat. 275 Jahre mikroskopischer Forschung. Sudhoffs Archiv 58, 336.
- Vesque, J., 1874: Observation sur les cristaux d'oxalate de chaux contenue dans les plantes et sur leur reproduction artificielle. Ann. Sc. Nat. Paris 5, sér. 19, 300.
-

Kurze Mitteilung

Rot verfärbte Chloroplasten in einer Cucurbitaceen-Frucht

Von

H. F. Neubauer, Bandung

(Eingegangen am 15. Dezember 1957)

Anläßlich einer kleinen Exkursion fand mein Assistent Achmad Apandi am 1. Dezember 1957 am Abhange des Vulkanberges Tangkuban Perahu bei dem Dorfe Jajagiri (im Bezirke Bandung, Westjava) die ziemlich seltene Cucurbitacee *Bryonopsis saciniosa* (L.) Nand. mit Blüten und Früchten in allen Entwicklungsstadien bis zur völligen Reife. Die unreifen jungen Früchte sind grün, eher etwas hell gelblichgrün mit weißen Flecken. Sie enthalten in den Zellen dicht an der Oberfläche ziemlich viele gelbgrün gefärbte Chloroplasten, in den tieferen Parenchymzellen nimmt deren Zahl sehr stark ab. Unter der Oberhaut befinden sich eine bis drei Lagen von Steinzellen mit sehr dicken Zellwänden, welche auch Chloroplasten führen.

In den reifen Früchten ist das Chlorophyll aus den Plastiden gänzlich geschwunden und durch einen orangegelben Stoff, man darf wohl annehmen, durch Karotin (oder/und verwandte Stoffe) ersetzt. Die Chloroplasten dieser Frucht verändern sich also bei der Vollreife in Chromoplasten. Es ist beachtenswert, daß sich dieser Vorgang auch an den Plastiden in den Steinzellen unter der Oberhaut abspielt. An einzelnen Zellen konnten solche Chromoplasten gesehen werden, welche an zwei gegenüberliegenden Seiten hervorstehende Spitzen zeigten, so, als ob ein Kristall sich zu bilden im Begriffe wäre. Ob der rotgelbe Farbstoff im Innern der Plastiden auch zur Kristallisation gelangen kann, müßte an überreifen Früchten zu beobachten sein, welche jedoch zur Zeit noch nicht vorhanden sind.

Daß Chloroplasten sich unter Umständen in Chromoplasten umwandeln können, wird bereits bei Molisch-Höfler (Anatomie der Pflanze) hervorgehoben; dabei handelt es sich um Chloroplasten von Blättern (*Aloe*, *Potamogeton*). Daß dieser Vorgang sich auch bei der Fruchtreife abspielen kann, ist bekannt, *Bryonopsis* bringt ein weiteres Beispiel.

Referate

Handbuch der Pflanzenphysiologie. Hrsg. v. W. Ruhland. Band VII: Stoffwechselphysiologie der Fette und fettähnlicher Stoffe. Bearbeitet von J. Asselineau, E. Bamann, W. Franke, H. Frehse, J. A. Lovern, M. L. Meara, K. Schmalfuss, M. Steiner, P. K. Stumpf, E. Ullmann, H. v. Witsch, A. Zeller. Redigiert von M. Steiner. Mit 59 Abb. XI, 512 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1957. Ganzl. DM 108.— (Bei Verpflichtung zur Abnahme des gesamten Handbuches Subskr.-Preis: Ganzl. DM 86.40).

Der vorliegende neue Band des großen Handbuches macht den Eindruck eines erfreulichen und nützlichen Buches. Er bringt uns einen weit gespannten Themenkreis in einer wohl gelungenen, harmonischen Zusammenstellung.

Die Darstellung beginnt mit zwei deskriptiv-biochemischen Kapiteln über die in den höheren und niederen Pflanzen nachgewiesenen Fette, die von einem Abschnitt über die enzymologisch-dynamische Seite des Fettstoffwechsels gefolgt werden. Dann wendet sich die Darstellung dem im engeren Sinne physiologischen Aspekt zu, also die Abhängigkeit der Fettbildung und des Fettabbaues von der Ernährung und anderen Lebensbedingungen. Auch hier werden die niederen und höheren Pflanzen in gesonderten Kapiteln behandelt. Bei den ersteren stehen die Pilze, bei den letzteren die fetthaltigen Samen im Vordergrund. Angenehm empfindet man, daß das Schwergewicht des Gesamtkonzeptes zu gleichen Teilen auf dem molekular-biochemischen und dem organismisch-physiologischen Aspekt des behandelten Gebietes ruht.

Auch der hinzugefügte Abschnitt über die wirtschaftliche Bedeutung der Pflanzenfette wird sicherlich Interessenten finden. Das letzte Kapitel, das die Phospho- und Glycolipide behandelt, kann auf Grund des derzeitigen Standes unserer Kenntnisse leider nicht viel mehr als eine Übersicht der aus verschiedenen Pflanzenmaterialien isolierten Verbindungen geben.

Kritisch wird, vor allem von zellphysiologischer Sicht, die Behandlung der Funktion der Lipide betrachtet werden müssen. Wohl war nicht zu erwarten, daß in das vorliegende Handbuch eine breite Darstellung über die Funktion der Lipide als Bausteine von Protoplasmastrukturen aufgenommen wird. Dies ist Aufgabe eines anderen Handbuches. Aber es wirkt etwas peinlich, daß diese Funktion geradezu geleugnet wird (S. 7): „Auch in funktioneller Hinsicht bilden sie (die Fette bzw. Lipide) eine Einheit. In der Zelle liegen wohl in der Regel Neutralfette, Phosphatide und Sterine als Gemenge vor.“ — Eine solche Darstellungsweise, die für die Lipide kaum eine andere Funktion als die von Reservestoffen offen läßt, wird einen protoplasmatisch orientierten Botaniker kaum befriedigen können.

Diese Einseitigkeit kann jedoch die positiven Qualitäten des Werkes nicht wesentlich schmälern. Der Redakteur und die Mitarbeiter haben uns vielmehr in einer wohl gelungenen Zusammenarbeit eine ausgewogene und harmonische, in die Breite und Tiefe gehende Darstellung des behandelten Wissensgebietes geliefert, für die ihnen die Physiologen, die künftig mit diesem Buche arbeiten werden, viel Dank und Beifall schuldig sind.

H. Kinzel (Wien).

Linser, H., und O. Kiermayer: Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe. Mit 98 Textabb., VII, 181 S. Wien: Springer-Verlag. 1957. Ganzl. S 189.—, DM 33.—, sfr. 33.80, \$ 7.85, £ 2/16/—.

Wenn Verbindungen einer Stoffgruppe praktisch nur durch biologische Tests erfaßt und quantitativ bestimmt werden können, ergeben sich über präparativ-analytische Schwierigkeiten hinaus zusätzlich solche, die in der Wahl und dem jeweiligen Zustand des Testobjekts gelegen sind. Die große Zahl der biologischen Testmethoden für Zellstreckungswuchsstoffe geht letzten Endes auf diese Schwierigkeiten zurück. Da zudem je nach Versuchsziel zu verschiedenen Tests bzw. Testobjekten gegriffen wird, diese sich aber außer durch ihre Empfindlichkeit auch durch Sekundärreaktionen derart unterscheiden, daß keinesfalls nur Streckungswirkungen allein erfaßt werden können, stellt eine weitere Unsicherheit beim Vergleich der mit verschiedenen Testen erhaltenen Ergebnisse dar. Die Autoren haben sich der gleich mühe- wie verdienstvollen Aufgabe unterzogen, die in der Literatur weit verstreuten Methoden nicht nur zu sammeln, sondern auch auf ihren Aussagewert kritisch zu prüfen; dabei kann sich Linser auf weitreichende eigene Erfahrungen stützen (hier sei auf eine bisher unpublizierte originelle Anwendung des Wachstumsinterferometers für Wuchsstoffstudien hingewiesen). Die Übersicht und die Vergleichbarkeit wird durch Umzeichnung der von den verschiedenen Autoren für die diversen Tests angegebenen Konzentrations-Wirkungskurven in eine einheitliche Form wesentlich erleichtert. Außer der Testung der Wuchsstoffe wird auch die Gewinnung und Trennung von Wuchs- und Hemmstoffen behandelt, auch die Molekulargewichtsbestimmung und die Verwendung radioaktiver Isotope berücksichtigt. Alle Methoden sind so dargestellt, daß ein Nacharbeiten möglich ist. So wird das Buch dem fortgeschrittenen Studenten das Einarbeiten in die Wuchsstoffmethodik erleichtern, es wird aber vor allem im Forschungslaboratorium ein wertvoller Helfer bei der Auswahl der für den jeweiligen Versuchszweck geeignetsten Methode, bei der Beurteilung des Ergebnisses und beim Vergleich mit den auf Grund anderer Methoden erhaltenen Ergebnissen sein.

O. Härtel (Graz).

Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung.

Hrsg. v. L. V. Heilbrunn und F. Weber. Band I: Grundlagen. 2. Biocolloids and their Interactions. By H. L. Booij and H. G. Bungenberg de Jong. With 159 figures, 162 pages. Wien: Springer-Verlag. 1956. S 312.—, DM 52.—, sfr. 53.30, \$ 12.40, £ 4/8/6.

Die biologisch orientierte Richtung der Kolloidchemie — vor etwa 20 Jahren noch in ganz Mitteleuropa in voller Blüte — scheint heute nur mehr in Holland lebendig und fruchtbar zu sein. Wir freuen uns nun über die so wohlgelungene und reichhaltige Zusammenfassung der neueren Ergebnisse aus der Bungenbergschen Schule, die uns mit der referierten Handbuchlieferung beschert worden ist.

Nach einer knapp und klar gehaltenen Einführung in die Kolloidchemie im allgemeinen wendet sich die Darstellung vor allem dem Spezialgebiet zu, das in Leiden vornehmlich behandelt wird: Der Coacervation. Hierzu ist nun in den letzten Jahren ein neues und überraschend vielfältiges Arbeitsgebiet gekommen: Die Untersuchung der Assoziationskolloide, jener kolloidalen Systeme also, die in Lösungen von polaren Lipoiden (Seifen, Lecithin u. dgl.) durch gerichtete Aneinanderlagerung der Einzelmoleküle entstehen. Diese Assoziationskolloide und die aus ihnen erhältlichen Coacervate scheinen nun für die Protoplasmatik von allergrößter Bedeutung zu sein. Sie zeigen nämlich bezüglich einer Reihe von kolloidphysikalischen Eigenschaften (wie Strukturviskosität, Elastizität, Strömungsdoppelbrechung Spinnbarkeit, Sol-Gel-Umwandlung) ein Verhalten, das dem des lebenden Plasmas in bemerkenswerter Weise ähnelt. Für diese

Phänomene, die man bisher nur aus den Eigenschaften der im Plasma enthaltenen Proteine ableiten zu können glaubte (Frey-Wysslings Haftpunkttheorie), ergeben sich nun ganz neue Möglichkeiten der Interpretation: Die im Plasma enthaltenen Lipide treten in den Vordergrund. „This resemblance led to the supposition that the framework of protoplasm is a system of micelles of association colloids. According to this hypothesis the natural association colloids, the phosphatides, are of the utmost importance for the submicroscopic texture of protoplasm“ (S. 156). Die heute fast vergessenen Vorstellungen von Lepeschkin scheinen damit eindeutig verifiziert worden zu sein. Die überaus große Anzahl der von Booiß und Bungenberg mitgeteilten kolloidchemischen Einzelbefunde, die nicht einmal andeutungsweise referiert werden können, zeugt von einem sehr lebendigen, in die Breite und in die Tiefe gehenden Forschungsbetrieb.

Einige kleine Schwächen (wie etwa die weniger überzeugenden Erklärungsversuche zur Plasmaströmung oder die nicht ernst gemeinte, aber doch gewagte Gegenüberstellung von zellähnlichen Coacervaten und lebenden Zellen) stören das Gesamtbild kaum. Die Durchsicht des Werkes hinterließ beim Referenten den Eindruck, daß die mitgeteilten Beobachtungen und Erkenntnisse nicht nur kolloidchemisch originell und interessant, sondern auch für das Verständnis der Eigenschaften des Protoplasmas fundamental wichtig seien.

H. Kinzel (Wien).

Winkler, Anneliese: Die Bakterienzelle. Ein Überblick über den gegenwärtigen Stand unseres Wissens. VI, 124 S. 10 Tafeln. Stuttgart: Gustav Fischer, 1956. Kart. DM 11.50.

Die großen Fortschritte, die die Bakteriencytologie in vielen Fragen im letzten Jahrzehnt erarbeitet hat, sind kaum in den neuen Lehrbüchern der Biologie und speziell der Botanik verzeichnet. Das ist sehr zu bedauern, denn es handelt sich da um Erkenntnisse, die für die allgemeine Biologie und Cytologie von wesentlicher Bedeutung und Wichtigkeit sind. Es ist daher sehr zu begrüßen, daß in dem vorliegenden Buch in mustergültiger Weise von dem heutigen Wissen all das dargestellt ist, was allgemein wirklich wissenschaftlich ist. Der ausgezeichnet disponierte Inhalt behandelt die Zellwand der Bakterien, die Kapseln, die Geißeln, die Zellkernäquivalente, das Cytoplasma und die cytoplasmatischen Einschlüsse, die Spore, abwegige Bakterienformen und die L-Phase, Untersuchungsmethoden. Jedes Kapitel schließt mit einem recht ausführlichen Literaturverzeichnis. Das kleine Buch ist in klarer, einprägsamer Sprache geschrieben und wird sicherlich das Interesse an der Bakterienzelle in weiten Kreisen der Biologen neu beleben.

F. Weber (Graz).

Bei der Schriftleitung sind folgende weitere Arbeiten eingelangt:

- Klermayer, O., und Elhousseiny Youssef:** Über die toxische Wirkung synthetischer Wuchs- und Hemmstoffe auf das Protoplasma einiger Pflanzen 6. 8. 1957
- Biebl, R., und W. Uzel:** UV-Strahlenwirkungen auf Zellen von *Allium cepa*, besonders deren Chondriosomen und Plastiden 8. 8. 1957
- Reisinger, E.:** Das Chondriom als trophisch-energetische Grundlage frühzeitiger Besamung 26. 8. 1957
- Kling, H.:** Versuche zur zytologischen Darstellung der Stoffeintrittsstellen und Transportbahnen in Wurzelrindenzellen 26. 9. 1957
- Keller, R.:** New Findings about Electricity in Cytoplasm 2. 10. 1957
- Reiff, B., und H. v. Guttenberg:** Zur Wirkung ungesättigter Laktone auf die Wasserführung der Kartoffel 5. 10. 1957
- Perner, E. S.:** Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytomorphologie des sogenannten „Golgisystems“ in Wurzelzellen verschiedener Angiospermen 7. 10. 1957
- Petzmann, Elsa Leonore:** Über rotierende Eigenbewegung der Zellkerne und Plastiden bei *Chara foetida* 22. 10. 1957
- Kinzel, H.:** Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe (Eine Studie zum cytochemischen Aspekt der Vitalfärbung) 22. 10. 1957
- Fuhs, G. W.:** Untersuchungen an Ultradünnschnitten von *Ocellularia amoena* (Kütz.) Gomont 24. 10. 1957
- Stadelmann, E.:** Zur Permeabilität der Epidermiszellen von *Carduncellus erioccephalus* 2. 11. 1957
- Wohlfarth-Bottermann, K. E.:** Feinstrukturveränderungen des Cytoplasmas und der Mitochondrien von *Paramecium* nach Einwirkung letaler Temperaturen und Röntgendosen (Cytologische Studien V) 2. 11. 1957
- Jarosch, R.:** Die Protoplasmafibrillen der Characeen 11. 11. 1957
- Steinhauf, D.:** Untersuchungen über die Cytodynamik der Spermatogenese von *Oedipoda coerulescens* L. 20. 11. 1957
- Slitte, P.:** Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbsen (*Pisum sativum*) 11. 12. 1957
- Kamiya, N., and K. Kuroda:** Measurement of the Motive Force of the Protoplasmic Rotation in *Nitella* 16. 12. 1957
- Nakazawa, S.:** Protoplasmic Polarity as a Groundwork for Genic Actions 20. 12. 1957
- Nakazawa, S.:** TTC Reduction and Neutral Red Demixing in *Polysiphonia* Cells 20. 12. 1957
- Iljin, W. S.:** Determination of Nitrogen in Plants Using Hypobromate and Avoiding Distillation 23. 12. 1957
- Kaho, H.:** Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenplasmas durch Rhodanide von Neutralsalzen, in Verbindung mit organischen Stoffen I 31. 12. 1957
- Freytag, K.:** Quellende Schleimzellen der Samenepidermis von *Sinapis alba* im polarisierten Licht 9. 1. 1958
- Keller, R.:** Electropolar Dyes in Kidney 10. 1. 1958
- Biebl, R.:** Temperatur- und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste 24. 1. 1958
- Milovidov, P.:** Bohumil Némec (Zum 85. Geburtstag) 29. 1. 1958
- Haber, W.:** Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der Chloroplasten von *Cabomba furcata* Schult. F. 30. 1. 1958
- Bopp-Hassenkamp, Gisela:** Lichtmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen über den Aufbau pflanzlicher Chromosomen im Pachytän der Meiosis 3. 2. 1958
- Jarosch, R.:** Zur Gleitbewegung der niederen Organismen 18. 2. 1958

SPRINGER-VERLAG IN WIEN

*Soeben erschien der vierte Band,
der den neuesten Stand der Virusforschung behandelt:*

Handbuch der Virusforschung

Begründet von

Prof. Dr. **R. Doerr** und Prof. Dr. **C. Hallauer**

Basel

Bern

Vierter Band

Herausgegeben von

Prof. Dr. **C. Hallauer** und Prof. Dr. **K. F. Meyer**

Bern

San Francisco

Mit Beiträgen von

G. H. Bergold-Sault Ste. Marie - F. M. Burnet-Melbourne - P. Fredericq-Liège - S. Gard-Stockholm - P. Goube de Laforest-Paris - C. W. Jungeblut-New York - W. Klöne-Hamburg-Eppendorf - P. Lépine-Paris - H. Löffler-Bern - G. Pylt-Insel Riems - W. C. Reeves-Berkeley - H. Röhrer-Insel Riems - K. M. Smith-Cambridge

Mit 61 Abbildungen (109 Einzelbildern) im Text. XV, 688 Seiten. Gr.-8°. 1958
Ganzleinen S 888.—, DM 148.—, sfr. 151.50, \$ 35.25

Vorwort des 4. Bandes

Die bisher erschienenen Bände des Handbuches tragen den untrüglichen Stempel seines Begründers und ersten Herausgebers, ROBERT DOERR. Unter tatkräftigster Mitwirkung von DOERR selbst und anderer hervorragender Fachgelehrter wurde versucht, das in Hinsicht auf Problematik und Methodik einheitliche Gepräge der Virusforschung zur Darstellung zu bringen, erkenntnistheoretische Werte zu wahren und deren befruchtende Auswirkung auf andere Wissenszweige zu sichern.

Nach dem Hinscheiden des Altmeisters mußte es das hauptsächlichste Anliegen der nachfolgenden Herausgeber sein, diese hohe Tradition zu wahren, gleichzeitig aber auch anderen Bedürfnissen zu genügen. Im vorliegenden vierten Band kommt diese erweiterte Zielsetzung dadurch zum Ausdruck, daß in einem allgemeinen Teil — wie bisher — aktuelle Probleme und technisch-methodologische Errungenschaften der Virusforschung unter möglicher Wahrung thematischer Zusammenhänge abgehandelt, und überdies, in einem speziellen Teil, die einzelnen Virusarten in monographischer Art dargestellt werden. Mit derartigen, auch für die Zukunft geplanten Übersichten über die historische Entwicklung und den jeweiligen Stand der Erforschung bestimmter Virusarten will das Handbuch auch seine Aufgabe als Nachschlagewerk erfüllen.

Dem Verlag gebührt der Dank für seine verständnisvolle Mitarbeit und großzügige Bereitwilligkeit zur Aufnahme ungewöhnlich zahlreicher Abbildungen.

Bern und San Francisco, im Jänner 1958. C. HALLAUER und K. F. MEYER

Übersicht über das Gesamtwerk

I. Band, 1. Hälfte: Mit 71 zum Teil farbigen Abbildungen im Text. XII, 546 Seiten. Gr.-8°. 1938. *Vergriffen*

2. Hälfte: Mit 19 Abbildungen im Text. XVI, 1384 Seiten. Gr.-8°. 1939. *Vergriffen*

II. Band (1. Ergänzungsband): Mit 62 Abbildungen im Text. VIII, 535 Seiten. Gr.-8°. 1944. *Vergriffen*

Lieferbar ist:

III. Band (2. Ergänzungsband): Mit 187 Abbildungen im Text. VIII, 425 Seiten. Gr.-8°. 1950.

S 400.—, DM 66.—, sfr. 66.50, \$ 15.80; Ganzleinen S 418.—, DM 69.—, sfr. 72.—, \$ 16.50

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

